

Aus  
der Veterinär-Medizinischen Klinik  
der Universität Zürich  
Direktor: Prof. Dr. med. vet. P.F. Suter  
Arbeit unter Leitung von Prof. Dr. med. vet. H. Lutz

---

## **DIE TOLLWUTIMPFUNG VON MIT FELINEM LEUKÄMIEVIRUS INFIZIERTEN KATZEN**

Inaugural - Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde  
der Veterinärmedizinischen Fakultät  
der Universität Zürich

vorgelegt von  
**MARCO FRANCHINI**  
Tierarzt,  
von Sorengo (TI)

genehmigt auf Antrag von  
Prof. Dr. med. vet. P.F. Suter, Referent  
Prof. Dr. med. vet. H. Lutz, Korreferent  
Prof. Dr. med. vet. M. Ackermann, Korreferent

Zürich 1990

Zentralstelle der Studentenschaft

# Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Einleitung und Problemstellung</b>	<b>4</b>
<b>2.</b>	<b>Literaturübersicht</b>	<b>5</b>
<b>2. 1.</b>	<b>Biologie des FeLV</b>	<b>5</b>
2. 1. 1.	Entdeckung	5
2. 1. 2.	Systematik	5
2. 1. 3.	Ursprung des FeLV	6
2. 1. 4.	Morphologie, Genom und Struktur	6
2. 1. 5.	Pathogenese und Epizootologie	7
2. 1. 6.	Klinische Symptome und Krankheitsverlauf	8
2. 1. 7.	Serologische Reaktionstypen	10
2. 1. 8.	Durch FeLV bedingte Immunsuppression	11
2. 1. 8. 1.	Klinische Beobachtungen	11
2. 1. 8. 2.	Experimentelle Untersuchungen über die Immunsuppression	11
2. 1. 8. 2. 1.	Immunsuppressionsmechanismen bei Infektionen mit verschiedenen Viren	11
2. 1. 8. 2. 2.	Immunsuppressionsmechanismen bei FeLV-Infektion	12
2. 1. 8. 3.	Impfversuche und Bestimmung der Antikörpertiter bei FeLV-infizierten Katzen	14
<b>2. 2.</b>	<b>Biologie des Tollwutvirus</b>	<b>14</b>
2. 2. 1.	Allgemeines	14
2. 2. 2.	Antigene Struktur	14
2. 2. 3.	Natürlich vorkommende Stämme	15
2. 2. 4.	Laborstämme	15
2. 2. 5.	Virustenzitität	16
2. 2. 6.	Wirtsspektrum	16
2. 2. 7.	Übertragung	16
2. 2. 8.	Inkubationszeit	16
2. 2. 9.	Klinische Symptome	17
2. 2. 10.	Epizootologie	17
2. 2. 11.	Pathogenese	18
2. 2. 12.	Folgen der Virusinokulation	18
2. 2. 13.	Impfung	19
2. 2. 13. 1.	Allgemeines	19
2. 2. 13. 2.	Lebendimpfstoffe	20
2. 2. 13. 3.	Totimpfstoffe	20
2. 2. 13. 4.	Spaltvakzine	21
2. 2. 13. 5.	Gentechnologisch hergestellte Rekombinationsvakzine	21
<b>2. 3.</b>	<b>Tollwut bei der Katze; Besonderheiten und Bedeutung.</b>	<b>22</b>
2. 3. 1.	Empfänglichkeit	22
2. 3. 2.	Gefährdung des Menschen	22
2. 3. 3.	Rasende Wut	23
2. 3. 4.	Impfung	23
2. 3. 5.	Durch Impfstoffe verursachte Tollwuterkrankung bei der Katze	24
<b>3.</b>	<b>Eigene Untersuchungen</b>	<b>25</b>
<b>3. 1.</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>25</b>
3. 1. 1.	Versuchsanordnung	25
3. 1. 1. 1.	Erster Vorversuch	25
3. 1. 1. 2.	Zweiter Vorversuch	25
3. 1. 1. 3.	Hauptversuch	25
3. 1. 2.	Katzen	25
3. 1. 3.	FeLV	26
3. 1. 4.	Tollwutvirus	26
3. 1. 5.	Inokulation des FeLV	26
3. 1. 6.	Inokulation des Tollwutvirus	26
3. 1. 7.	Impfstoffe	27
3. 1. 8.	Testmethoden	27
3. 1. 8. 1.	ELISA zum Nachweis von FeLV p27	27
3. 1. 8. 2.	Indirekter Immunfluoreszenztest zum Nachweis der FeLV-Infektion	27

3. 1. 8. 3.	Virusneutralisationstest zur Bestimmung der Tollwutantikörpertiter: RFFIT	28
3. 1. 8. 4.	Titration des für die Testinfektion verwendeten Tollwutvirus	30
3. 1. 8. 5.	Tollwutvirusnachweis mittels direktem Immunfluoreszenztest	30
3. 1. 8. 6.	Tollwutvirusnachweis im Speichel	30
3. 1. 8. 7.	Überwachung des Gesundheitszustandes	30
3. 1. 8. 8.	Statistische Methoden	30
4.	<b>Resultate</b>	31
4. 1.	<b>Allgemeine Angaben über den Krankheitsverlauf der an Tollwut erkrankten Katzen in den 3 Experimenten</b>	31
4. 2.	<b>Erster Vorversuch</b>	32
4. 3.	<b>Zweiter Vorversuch</b>	32
4. 4.	<b>Hauptexperiment</b>	34
5.	<b>Diskussion</b>	40
6.	<b>Zusammenfassung</b>	43
7.	<b>Literaturverzeichnis FeLV</b>	44
8.	<b>Literaturverzeichnis Tollwut</b>	50
	Danksagungen	56
	Lebenslauf	57

#### Abkürzungen und Definitionen

ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FeLV-frei	Katze, die nie Kontakt mit dem FeLV hatte und FeLV-negativ ist
FeLV-negativ	Katze, bei der kein p27 im Serum nachweisbar ist
FeLV-positiv	Das Virusprotein p27 ist mittels ELISA im Katzenserum nachweisbar
FeLV	Felines Leukämievirus
FeSV	Felines Sarkomvirus
FFU	Focus forming unit
FIV	Felines Immunschwäche Virus
FTLV	Felines T-Lymphotropes Virus (=FIV)
Gr.	Gruppe
Gruppe F	Gruppe der 17 FeLV-infizierten Katzen die persistierend virämisch wurden
Gruppe O	Gruppe der FeLV-freien, tollwutgeimpften Kontrolltiere
IU	International Units
IFA	Immuno-Fluorescent Assay
MLDic50	Dosis Virussuspension bei der, bei intrakranialer Applikation eines Volumens von 0.03 ml pro Maus, 50% der Tiere an Tollwut erkranken und sterben (Mäuse Lethaldosis 50% intrakranial)
NIH-Test	National Institute of Health Test zur Bestimmung der Potenz einer Vakzine
RFFIT	Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test (zur Bestimmung des Titers tollwutvirusneutralisierender Antikörper)
SPF-Katzen	Spezifiziert Pathogen-Freie Katzen

Andere Abkürzungen werden direkt im Text erklärt.

## 1 Einleitung und Problemstellung

Der Biologie des **feline Leukämievirus** (FeLV) kam im Verlauf der letzten 20 Jahre aus verschiedenen Gründen grosses Interesse zu. Nach der Entdeckung und Isolierung des FeLV durch Jarret et al. (1964b) sowie Kawakami et al. (1967) wurden Biologie und Wirkung des FeLV und seiner Proteine auf verschiedene menschliche, murine und feline Zellen in vitro und in vivo intensiv untersucht. In der Folge hat man es als ideales Modell für das Verständnis der Tumorentstehung und der Leukämiepathogenese angesehen. Erst später wurde die immunsuppressive Wirkung des FeLV erkannt [Perryman et al., 1972]. Die durch FeLV bedingte Immunsuppression wurde in der Folge auch als FAIDS bezeichnet [Hardy et al., 1986], ein Begriff, der sich nachträglich als verwirrend erwies, nachdem auch bei Katzen eine Immunsuppression induzierendes Lentivirus mit einem ausgeprägten Tropismus für die T-Zellen isoliert wurde [Pedersen et al., 1987]. Das FeLV wurde damit nicht nur als Modell für das Studium der Tumorentstehung, sondern auch zum Studium der retrovirusbedingten Immunsuppression betrachtet.

Die Untersuchung sollte die Frage beantworten, ob FeLV-positive Katzen imstande sind, einen belastungsfähigen Impfschutz gegen Tollwut aufzubauen. Die Fragestellung ist von grossem praktischem Interesse. Falls solche Katzen keinen Schutz aufbauen können, werden die Hauptzwecke der Impfung, die Verhinderung des Überspringens der Wildtollwut auf Hauskatzen und der Schutz des Katzenbesitzers bzw. seiner Familie von einer potentiellen Ansteckung, nicht mehr gewährleistet. Das Phänomen, wonach gegen Tollwut geimpfte Katzen an Tollwutvirusinfektion erkranken können, ist bekannt [Steck et al., 1980]. Selbst unter experimentellen Bedingungen wird bei der Katze nicht immer ein 100%iger Impfschutz erreicht [Abelseth, 1967; Lawson et al., 1967]. Die vorliegende Untersuchung basiert auf einer Anregung von Dr. M. Crottaz, einem praktizierenden Tierarzt aus der Westschweiz, in dessen Praxiseinzugsgebiet sowohl FeLV Infektion als auch Wildtollwut überdurchschnittlich häufig vorkamen. Es wurde versucht, die Fragestellung dadurch zu beantworten, dass FeLV-positive Katzen gegen Tollwut geimpft wurden, danach der Anstieg der Antikörpertiter gemessen und schliesslich die Tiere einer direkten Belastungsinfektion ausgesetzt wurden.

## 2 Literaturübersicht

### 2. 1 Biologie des FeLV

#### 2. 1. 1 Entdeckung

Das Feline Leukämie Virus (FeLV) wurde 1964 von Jarret et al. in einer Katze mit einem Lymphosarkom entdeckt. Im Jahre 1967 gelang es Kawakami et al., das Virus aus dem Blut kranker Katzen zu isolieren. Heute weiss man, dass das FeLV weltweit verbreitet ist.

#### 2. 1. 2 Systematik

Das FeLV gehört zur Familie der Retroviridae. Die Retroviren sind dadurch gekennzeichnet, dass sie zur Replikation über das Enzym Reverse Transkriptase verfügen. Es handelt sich um eine RNS-abhängige DNS Polymerase, die es dem Virus erlaubt, die virale RNS in eine DNS "zurückzutranskribieren" und die neu entstandene, durch das Virus kodierte DNS, fest in die DNS der Wirtszelle einzubauen. Bezüglich Einzelheiten dieser Mechanismen siehe Weiss et al., 1982. Die Familie der Retroviren umfasst 3 Subfamilien: die Oncoviren, die Spumaviren und die Lentiviren. Vertreter aller 3 Familien sind bei der Hauskatze gefunden worden (s. Tabelle 2.1).

Tabelle 2.1 Systematik der Retroviren der Katze

FAMILIE	SUBFAMILIE	TYP*	SUBTYP**
RETROVIRIDAE	ONCOVIRINAE	A	
		B	A
		C	B
			C
	LENTIVIRINAE	FeLV (FeSV)	
		RD114	
		D	
	SPUMAVIRINAE	FIV (FTLV)	
		Felines Syncytialvirus = (FeSPV=feline syncytium forming virus)	

\* Die Einteilung erfolgt nach elektronenoptischen Kriterien .

\*\* Die Einteilung erfolgt aufgrund des Wirtszellspektrums und von Interferenzexperimenten, nicht immunologisch.

Die Oncoviren verdanken ihren Namen der Eigenschaft, beim Wirtstier Tumore zu induzieren (von griechisch "onkos", Geschwulst). Aufgrund elektronenoptischer Kriterien werden die Oncoviren in verschiedene Typen eingeteilt (Typ A bis Typ D). Bei der Katze sind 3 Vertreter der Oncoviren bekannt, welche alle dem C-Typ angehören. Neben dem FeLV, bei dem man 3 Subtypen unterscheidet, wurde ein felines Sarkomvirus (FeSV) isoliert. Bei diesem handelt es sich um eine Abart des FeLV, das in der Regel nur über ein

unvollständiges Genom des Leukämievirus verfügt, dafür aber ein zusätzliches Gen (das sogenannte Oncogen) enthält, welches ihm seine tumorverursachenden Eigenschaften verleiht. Es sind verschiedene Oncogene bekannt. (siehe Weiss et al., 1982). Feline Sarkomviren entstehen wahrscheinlich als ausserordentlich seltene Ereignisse immer wieder *de novo* in der Katzenpopulation.

Das dritte bei der Katze bekannte Oncovirus, das RD114-Virus, dürfte ursprünglich von Primaten stammen [Benveniste et al., 1975]. Das RD114-Virus ist ein sogenanntes endogenes Virus und kommt in jeder Katzenzelle vor. Es wird von der Mutter auf die Nachkommen übertragen und wird nur gelegentlich exprimiert, z.B. in besonders rasch sich teilendem Gewebe. Es vermag aber Katzenzellen *in vitro* nicht zu infizieren und ist für Katzen nicht pathogen [Fischinger et al., 1973].

Die Spumaviren verdanken ihre Bezeichnung dem an Schaum erinnernden Bild der gefärbten Kultur. Wegen ihrer Eigenschaft, in Kulturen Syncytien zu bilden, werden sie oft auch Syncytialviren genannt. Bei der Katze kennt man das "feline syncytium forming virus", abgekürzt FeSFV. Das FeSFV ist in der Katzenpopulation weit verbreitet und wird als apathogen angesehen (siehe Teich, 1982 oder Pedersen, 1987b).

Seit kurzem ist bei der Katze auch ein Vertreter der Lentiviren bekannt [Pedersen et al., 1987]. Dieses Virus wurde zunächst felines T-lymphotropes Lentivirus genannt aufgrund seiner Affinität zu T-Lymphozyten. In Anlehnung an die Nomenklatur der AIDS-Viren wird heute die Abkürzung FIV verwendet für "feline immunodeficiency virus". Das FIV führt bei infizierten Tieren zu Immunsuppression und ist in Europa weit verbreitet [Lutz et al., 1988].

## 2. 1. 3 Ursprung des FeLV

Aufgrund der immunologischen Eigenschaften und der Nukleotidsequenzen konnte gezeigt werden, dass das FeLV ursprünglich bei einem Vorfahren der heutigen Ratte vorkam. Vermutlich im Rahmen des Beutefanges gelang es dem FeLV vor 1 bis 10 Millionen Jahren die interspezies-Barriere zu überspringen und auf die Katze überzugehen [Benveniste et al., 1975]. Das FeLV kommt in einer exogenen und einer endogenen Form vor. Das exogene FeLV ist ein von Katze zu Katze übertragbares krankmachendes Virus. Das endogene FeLV hingegen lässt sich in jeder Zelle von Hauskatzen in mehreren Kopien nachweisen; sein Genom ist jedoch unvollständig, und es wird deshalb nicht als infektiöses Virus exprimiert [Livingston und Todaro, 1973; Okabe et al., 1976].

## 2. 1. 4 Morphologie, Genom und Struktur

Das FeLV ist ein sphärisches Partikel mit einem Durchmesser von rund 110 nm. Es ist von einer doppelschichtigen Lipidhülle überzogen, aus welcher sogenannte Glykoprotein-Spikes hervorragen. Der Innenkörper weist eine Ikosaederstruktur auf; zwischen Hülle und Innenkörper befindet sich eine Proteinschicht, die als innerer Mantel bezeichnet wird. Die virale RNS umfasst wie bei allen Retroviren die 3 Gene "gag, pol, und env" [Bolognesi et al., 1978].

Das gag Gen kodiert für den Virusinnenkörper, welcher 4 Proteine umfasst (p27, p15, p12 und p10). Die Abkürzung gag steht für den Begriff gruppen-spezifische Antigene; er wird synonym mit der Kurzform gsa verwendet. Die gruppenspezifischen Antigene des FeLV besitzen eine ähnliche antigene Struktur wie die gag Proteine von Typ-C Oncoviren anderer Säugetiere [Stephenson et al., 1977]. Hauptkomponente der gag Proteine ist das Kapsidprotein p27 (p für Protein, 27 für 27000 Dalton). Das p15 ist ein Nukleokapsid

assoziiertes Strukturprotein, das **p12** bildet den inneren Mantel zwischen Nukleokapsid und Hülle. Das **p10** ist ein mit der viralen RNS assoziiertes Protein [Bolognesi et al., 1978; Neil et al., 1980].

Das pol-Gen kodiert für die **Polymerase**, also für die Reverse Transkriptase. Dieses Enzym auch RNS-abhängige DNS-Polymerase bezeichnet [Baltimore, 1970], bewirkt die Bildung einer zur viralen RNS komplementären DNS, welche zunächst einzelsträngig, dann doppelsträngig synthetisiert und fest in das Genom der Wirtszelle integriert wird. Diese durch das Virus kodierte DNS wird als Provirus bezeichnet. Das Provirus kann über längere Zeit im Wirtsgenom integriert bleiben. Die eigentliche Virussynthese basiert auf dem Provirus, von welchem nach den bekannten Mechanismen der Transkription und der Translation Virusproteine synthetisiert werden [siehe Weiss et al., 1982].

Das env-Gen (von **envelope**) kodiert 2 Komponenten der Virushülle. Dies sind das **p15E** (E für envelope, nicht zu verwechseln mit dem p15 des Innenkörpers) und das **gp70** (gp für Glykoprotein) [Velicer und Graves, 1974; Pinter und Fleissner, 1979]. Das p15E ist ein in hohem Masse lipophiles Protein, welches als sogenanntes Transmembranprotein in der Lipidhülle der Viruspartikel steckt. Über Disulfidbindungen ist die äussere Komponente der Virushülle das gp70 am p15E verankert. Das gp70 bildet die im Elektronenmikroskop erkennbaren "Knobs". Das gp70 ist das für die Immunantwort der Katze wichtige Zielprotein: Antikörper gegen gp70 vermögen sich an die Virushülle zu binden und damit die Anheftung des Virus an die Zielzelle zu verhindern, d.h. das Virus zu neutralisieren [Sarma et al., 1974].

Bei mit FeLV infizierten Katzen kennt man ein weiteres Antigen, das **FOCMA** (**Feline Oncornavirus-associated Cell Membrane Antigen**) [Essex et al., 1971]. Hohe Titer an Antikörper mit Spezifität für FOCMA vermögen Katzen vor der Tumorentstehung zu schützen [Essex et al., 1971, 1976]. Ursprünglich glaubte man, dass es sich bei FOCMA nicht um ein virales, sondern um ein zelluläres Antigen handle, welches jedoch als spezifischer Tumormarker nach einer FeLV Infektion von der Zelle synthetisiert und an deren Oberfläche exprimiert würde [Essex et al., 1971]. Mit Hilfe monoklonaler Antikörper mit Spezifität für das gp70 des FeLV Subtyps C gelang der Nachweis, dass FOCMA mindestens mit dem gp70 des Subtyps C identisch sein muss [Vedbrat et al., 1983]. Beim Subtyp C dürfte es sich um ein FeLV handeln, das aus der Rekombination des ubiquitären Subtyps A mit dem env-Gen des endogenen FeLV entsteht. Der Subtyp C kann nur sehr selten aus Katzen isoliert werden, über 50% der Feldkatzen verfügen jedoch über Antikörper gegen den FeLV Subtyp C [Russell und Jarrel 1978].

## 2. 1. 5 Pathogenese und Epizootologie

Eine FeLV-virämische Katze scheidet das Virus in allen Körpersekreten aus, hauptsächlich jedoch mit dem Speichel, in welchem bis zu 2 Millionen infektiöse Viruspartikel pro ml gefunden werden können [Hardy et al., 1969, 1973, Gardner et al., 1971]. Das FeLV wird hauptsächlich durch direkten Kontakt mit infizierten Katzen übertragen. Eine Virusübertragung kann jedoch auch indirekt über Futtergeschirre erfolgen; Tröpfcheninfektionen sind selten. Das FeLV setzt sich zunächst in Lymphozyten des Rachenraumes fest, repliziert dann in den lokalen lymphatischen Geweben der Kopf- und Halsregion, von wo es durch Lymphozyten und Monozyten in die Blutbahn verschleppt wird. Diese Phase wird auch als "early cell-associated" Virämie bezeichnet. Mit diesen, infizierten Zellen gelangt das Virus ins Knochenmark und in die übrigen lymphatischen Gewebe des Körpers. Nach der Infektion des Knochenmarkes, kommt es zur raschen und massiven Virusvermehrung und Virämie. In dieser Phase kann das Virus in grosser Menge (bis zu 10 Mio. infektiöser Partikel pro ml) im Serum nachgewiesen werden. In der virämischen Phase geht das

Virus auf Epithelien von Rachen, Schlund, Magen, Darm, Blase sowie auch der Speicheldrüsen über, womit die infizierte Katze zum massiven Virusausscheider wird [Rojko et al., 1979].

Das Immunsystem kann den Ablauf der Infektion jederzeit unterbrechen. Die infizierte Katze bleibt danach während längerer Zeit immun gegen eine Reinfektion. Unter Feldbedingungen dürfte ein grosser Teil der einmal virämisch gewordenen Katzen virämisch bleiben. Bei einem Teil der Tiere kommt es aber wenige Wochen, in einigen Fällen erst mehrere Monate nach Beginn der Virämie zur Ausbildung einer Immunität. Katzen, welche länger als 16 Wochen virämisch geblieben sind, haben kaum noch eine Chance immun zu werden [Pedersen 1987a].

Das **Wirtsspektrum** des FeLV unter natürlichen Bedingungen beschränkt sich auf domestizierte Katzen und einige exotische Wildkatzenarten [Pedersen 1987a]. In vitro wird die Gattungsgrenze von den Subtypen B und C, jedoch nicht vom Subtyp A, überschritten: FeLV-B kann sich in Zellen von Hund, **Nerz**, Hamster, Schwein, Rind, Affe und Mensch vermehren. FeLV-C repliziert in Hunde-, **Nerz**-, Meerschweinchen-, Rinder- und menschlichen Zellkulturen [Hardy 1980].

Die **Kontagiosität** des FeLV ist als eher gering zu betrachten. Dafür spricht die Beobachtung, dass für eine experimentelle Infektion einer Jungkatze hohe Virusmengen (etwa eine Million infektiöse Partikel im Falle des FeLV Subtyp-A-Glasgow) notwendig sind.

Die **Tenazität** des Virus ist sehr gering. Es verliert seine Infektiosität innert weniger Minuten nach Austrocknung [Francis et al., 1979a]. Als behülltes Virus wird es rasch durch gewöhnliche Detergentien inaktiviert. Die **Empfindlichkeit** der Katze für eine FeLV-Infektion ist stark altersabhängig [Hoover et al., 1976]. Inkubationszeit und Krankheitsverlauf hängen von der Virulenz des Virusstammes und vom Alter der Katze ab. Hoover et al. (1976) infizierten 67 SPF-Katzen verschiedener Altersklassen (von neugeborenen an bis einjährigen Katzen) mit dem Rickard- oder dem Kawakami-Theilen-Stamm. Von den neugeborenen Kätzchen wurden 100% virämisch und krank; im Alter zwischen 2 Wo. und 2 Mo. wurden bis zu 85% virämisch und krank, und im Alter zwischen 2 Mo. und 1 J. erkrankten nur 15% der Tiere.

## 2. 1. 6 Klinische Symptome und Krankheitsverlauf

Virämische Katzen können während Monaten oder Jahren klinisch gesund bleiben. Die wichtigsten Folgen der FeLV-Infektion manifestieren sich bei persistierend virämischen Katzen erst Monate bis Jahre nach Eintreten der Virämie. Mc Clelland et al. (1980) untersuchten die Mortalität von FeLV-virämischen Katzen, welche in Kollektiven gehalten wurden. Sie fanden eine jährliche Mortalität bis zu 50%; innert 3 1/2 J. waren 83% der FeLV-infizierten Katzen gestorben. Bei Kätzchen im Absetzalter beobachtet man zu Beginn der virämischen Phase oft leichtes Fieber und Störung des Allgemeinbefindens. Diese Symptome werden in der Regel begleitet von einer Anämie, einer zum Teil hochgradigen Leukopenie sowie Thrombozytopenie und gelegentlich von Lymphadenopathie. Die Symptome können in dieser primären Phase derart ausgeprägt sein, dass einige Katzen daran eingehen. In der Regel sind sie aber wenig ausgeprägt oder werden vom Besitzer nicht beachtet. Die Wahrscheinlichkeit des Auftretens klinischer Symptome in der ersten Phase der Virämie nimmt mit zunehmendem Alter der infizierten Katzen ab.

Die über längere Zeit persistierende Virämie führt zu primären oder sekundären Krankheiten degenerativer oder proliferativer Natur. Die Folgen der degenerativen Erkrankungen sind Knochenmarkdepression mit Neutropenie, Anämie und Thrombozytopenie. Bei vorwiegender Beteiligung des lymphatischen Systems kommt es zur Lymphopenie oder aber lediglich zu funktionellen Störungen des Immunsystems, welche zur



Immunsuppression führen. Die degenerative Erscheinungen können sich im Uterus, in der Plazenta, im Nervengewebe und in den Nieren manifestieren. Seltener als degenerative Erkrankungen sind proliferative Krankheiten als Folgen der FeLV-Infektion. Dazu gehören in erster Linie lymphatische Tumore, von welchen man 4 verschiedene Formen unterscheidet. Die lymphatischen Tumore sind in der Regel auf den Thymus und die Lymphknoten beschränkt. Echte Leukämien, Myeloische Leukämien und Fibrosarkome treten selten auf [Jarret et al., 1964a,b; Gardner et al., 1970; Snyder und Theilen, 1969; Hoover 1973; Cotter 1976; Hardy 1980; Pedersen 1987a].

Man unterscheidet primäre und sekundäre durch FeLV bedingte Krankheiten wobei eine scharfe Abgrenzung, vor allem bei den immunpathologischen und neurologischen Krankheiten sowie bei den Fortpflanzungsstörungen, nicht immer einfach ist. Unter primären Erkrankungen versteht man pathologische Erscheinungen, die in direktem Zusammenhang mit der zellschädigenden Eigenschaften des FeLV stehen, und sich auf die Funktion eines Organs oder Systems auswirken. Die sekundären Erkrankungen sind in den meisten Fällen die Folgen der Schädigung des Immunsystems. [Lutz, 1983; Pedersen, 1987a].

#### **Primäre durch FeLV bedingte Erkrankungen**

Die **Thymusatrophie** ist eine degenerative Erkrankung, die die T-Lymphocyten im Thymus der jungen Katze betrifft [Anderson et al., 1971a; Hoover et al., 1973]. Diese Tiere werden meistens bereits diaplazentar oder galaktogen durch das Muttertier infiziert. Die Folge davon ist eine geschwächte, zellvermittelte Immunität, die sich in einer erhöhten Infektionsanfälligkeit äussert [Hardy 1987].

Bei älteren Tieren werden **Lymphopenien** als direkte Folge der FeLV Infektion beobachtet [Cockerell et al., 1976; Hardy 1982]. Da diese Katzen wegen der erhöhten Infektionsanfälligkeit häufig an einer Sekundärinfektion leiden, erscheinen die Lymphknoten normal oder eventuell vergrössert (nur bei Katzen, die frei sind von anderen Infektionen sind sie atrophiert). Diese Tiere sterben meistens an einer Sekundärinfektion [Hardy 1987].

**Lymphatische Tumore:** Bei einem kleinem Prozentsatz der infizierten Katzen entwickelt sich innerhalb Monaten bis Jahren ein Lymphosarkom (LSA) oder eine lymphatische Leukämie [Hardy, 1981]. Nach Dorn et al. (1968) sind ein Drittel der bei der Katze auftretenden Tumore hämatopoetischer Natur; 90% davon sind LSA, und die Häufigkeit der LSA bei der Katze ist höher als bei anderen Tierarten. Das FeLV wurde erstmals aus einem LSA isoliert [Jarret et al., 1964b]. Francis et al., (1979b) stellten fest, dass 70% der Katzen mit LSA FeLV-infiziert sind. Diese Tumore können je nach Altersklasse in verschiedenen Formen und Lokalisationen auftreten; z. B. sog. "alimentäre Lymphosarkome" manifestieren sich häufiger bei älteren Katzen, während Thymuslymphosarkome eher in der Altersklasse um 2 1/2 Jahre auftreten [Hardy 1980]. Die Symptome sind sehr vielfältig und Folge des Funktionsverlustes des betroffenen Organes (Konstipation, Stauungserscheinungen im Brustkorb- und Kopfbereich, Blindheit und andere neurologische Ausfälle, Nierenfunktionsstörungen usw.).

**Myeloische Tumore** entwickeln sich aus den Vorläuferzellen der myeloischen Zellreihe und erscheinen in einer späten Phase der Krankheit; die klinischen Manifestationen sind Anämie, Hepatosplenomegalie und Ikterus [Pedersen 1987a]. Echte sowohl lymphatische als auch myeloische Leukämien sind sehr selten [Hardy 1980].

**Knochenmarkdepression** ist die häufigste degenerative Erscheinungsform der FeLV-Infektion. Sie kann sich als **regenerative oder nicht-regenerative Anämie** (mit Hämatokritwerten bis zu 10%),

Leukopenie, die einzelne oder alle Zelltypen betreffen kann oder als Thrombozytopenie äussern [Hardy et al., 1976; Pedersen et al., 1977; Lutz 1983]. Eine spezielle Form von Knochenmarkdepression, deren Symptomatik der Katzenseuche (Parvovirose) ähnelt, ist das sog. "panleukopenia-like syndrome". Diese Erkrankungsform ist durch schwere hämorrhagische Durchfälle mit Blutverlust-Anämie, enterogen entstehende Septikämien, hämorrhagische Lymphadenitiden und hochgradige Panleukopenie charakterisiert [Hardy et al., 1980]

**Fortpflanzungsstörungen** treten als Aborte, Resorption der Föten oder als Geburt von lebensschwachen oder persistierend virämischen Welpen in Erscheinung [Hardy, 1980].

**Neurologische Erkrankungen** sind selten und manifestieren sich in Form von Nachhandlähmungen oder Blindheit. In den entsprechenden Nervenfasern konnten Lutz und Pedersen (1983e) bei 3 Patienten mittels Immunfluoreszenz grosse Mengen von FeLV Antigenen nachweisen. Diese Erscheinungen waren experimentell nicht reproduzierbar [Hardy, 1987]. Persistierende Mydriasis, Anisokorie, Harninkontinenz sind ebenfalls beschrieben worden [Pedersen, 1987a].

Knorpelige Geschwülste (Chondrome) sind selten [Pool und Harris, 1975; Pedersen, 1987a].

### **Sekundäre durch FeLV bedingte Erkrankungen**

**Immunopathien** treten in verschiedenen Formen auf und haben verschiedene gesicherte, z.T. aber nur vermutete Entstehungsmechanismen; sie werden zu den sekundären durch FeLV bedingten Krankheiten gezählt. Als Folge der zirkulierenden Antigen-Antikörperkomplexe kann sich eine "Immunkomplex-Glomerulonephritis" entwickeln [Anderson und Jarret, 1971b; Jakowsky et al., 1980]. Ferner sind weitere Krankheiten wie autoimmunhämolytische Anämie [Scott et al., 1973] und autoimmunbedingte Thrombozytopenie beschrieben. Chronisch-progressive Polyarthritis, bei denen das FeLV als "Verstärker" wirken würde [Pedersen et al., 1980], Polyneuropathien und Myopathien wurden mit dem FeLV in Zusammenhang gebracht [Pedersen, 1987a]. Die FeLV bedingte Immunsuppression wird im Kapitel 2.1.8. behandelt.

### **2. 1. 7 Serologische Reaktionstypen**

Lutz et al. (1980, 1983c) konnten anhand von Antigenbestimmungen im Serum und in den Granulozyten sowie Antikörpertitermessungen (anti-FeLV und anti-FOCMA) mittels ELISA und IFA bei 36 im Experiment unter natürlichen Bedingungen infizierten Katzen 4 mögliche Verlaufsmuster einer FeLV-Infektion feststellen.

Die Katzen des Verlaufsmusters 1 entwickelten eine **persistierende Virämie**, sie bildeten niedrige Antikörpertiter gegen FeLV und FOCMA.

Katzen des Verlaufsmusters 2 zeigten eine **transitorische Virämie**, die 2 bis 8 Wochen andauerte. Mit dem Verschwinden vom p27 Antigen im Serum wurden zunehmend höhere anti-FeLV und anti-FOCMA Antikörper beobachtet. Die Titer erreichten mittlere bis hohe Werte.

Zum Verlaufsmuster 3 (**Serokonversion ohne Virämie**) gehörten Katzen, bei denen weder p27 im Serum noch gsa im peripheren Blut gefunden wurden. Diese Tiere bildeten aber mittlere bis hohe Antikörpertiter gegen FeLV und FOCMA.

Bei den Katzen des Verlaufsmusters 4 war der Nachweis von p27 im Serum möglich; allerdings waren die Antigenmengen geringer als bei den Tieren der Gruppen 1 und 2. Im Immunfluoreszenztest liess sich in den Granulozyten des peripheren Blutes kein gsa nachweisen. Bei einzelnen Tieren dieser Gruppe liess sich aus

Biopsien des Dünndarmes, der Niere oder aus dem buffy coat, nicht aber aus dem Serum infektiöses Virus isolieren. Sie erwiesen sich damit als Träger mit **Antigenämie**. Während der Antigenämie konnte man hier zum Teil hohe Titer von anti-FelV- und anti-FOCMA Antikörpern messen.

Während früher angenommen wurde, dass Tiere der Gruppe 2 und der Gruppe 3 nach Verschwinden des Antigens im Serum gegenüber FelV immun wären und nicht mehr als Ausscheider in Frage kommen würden, konnten Post und Warren (1980) sowie Rojko et al. (1982) zeigen, dass Katzen nach durchgemachter Infektion das FelV während Wochen im Knochenmark beherbergen. Durch Applikation von hohen Dosen von Glucocorticoiden oder durch Kultivierung von Knochenmarkszellen während mehreren Wochen konnte dieses latent vorhandene Leukämievirus reaktiviert werden. Pedersen und Mitarbeiter (1984) zeigten später, dass diese latente Form der Infektion, welche durch Routinetechniken nicht erkannt werden kann, rund 6 Monate nach Ende der transitorisch virämischen Phase beendet ist, und zu diesem Zeitpunkt kein Virus mehr reaktiviert werden kann.

## **2. 1. 8 Durch FelV bedingte Immunsuppression**

### **2. 1. 8. 1 Klinische Beobachtungen**

Die Mechanismen, die zur Immunsuppression bei FelV-infizierten Katzen führen sind noch nicht genau bekannt; auffällig ist aber die Beobachtung, dass rund 50% der chronischen FelV-Träger entweder an einer Sekundärinfektion, oder an einer Immunopathie (Immunkomplexglomerulonephritis, Thrombozytopenie, Anämie) sterben [Pedersen 1987a]. Die Sekundärinfektionen nehmen bei der FelV-infizierten Katze oft einen schwereren Verlauf. So fanden Cotter et al. (1975) bei 16 von 30 Katzen mit FIP eine FelV-Infektion, 1/3 der Katzen mit Toxoplasmose und 1/3 der Tiere mit Kryptokokkose litten gleichzeitig an einer FelV Infektion. Rund 70% der Hämobartonellosefälle waren von einer FelV-Infektion begleitet [Pedersen 1987a]. Zusätzlich erkrankten FelV-infizierte Katzen häufiger an bakteriellen Infektionen [Hardy 1982]. Nach Hardy (1987) sollen etwa 50% der Katzen mit chronischen Stomatitiden oder Gingivitiden, rund ein Drittel der Tiere mit Abszessen und chronischen nicht heilenden Hautläsionen, 50% der an chronischen Krankheiten des oberen Respirationstraktes sowie die Hälfte der an Sepsis und Pyothorax leidenden Katzen gleichzeitig eine FelV Infektion aufweisen.

### **2. 1. 8. 2 Experimentelle Untersuchungen über die Immunsuppression.**

#### **2. 1. 8. 2. 1 Immunsuppressionsmechanismen bei Infektionen mit verschiedenen Viren.**

Im Jahre 1972 veröffentlichte Dent eine Übersichtsuntersuchung, in welcher er Arbeiten diskutierte, die sich vor allem mit der immunsuppressiven Wirkung von onkogenen Viren befassten. Die Angaben zu den nachstehenden Publikationen sind aus der Übersichtsarbeit von Dent entnommen worden.

Von Pirquets beobachtete 1908 das Phänomen des Ausfallens der verspäteten Tuberkulinreaktion (Hypersensibilität) bei Masern. Später konnten diese Beobachtungen sowohl in vivo als auch in vitro wiederholt werden. 1960 konnten Old und Mitarbeiter eine verminderte Antikörperproduktion gegen Schaferythrozyten bei mit Friend Leukämie Virus infizierten Mäusen feststellen. Ähnliche Experimente von Odaka et al. (1966), Salaman und Wedderburn (1966 und 1968), Ceglowski und Friedman (1969a,b,c), Bendinelli (1968), Schneider und Doré (1969), Bennet und Steeves (1970) bestätigten später diese Beobachtung. Dent diskutierte diese Studien und beobachtete dabei, dass die immunsuppressive Wirkung mit zunehmendem Abstand zwischen Virusinfektion und Antigenapplikation grösser wurde. Ein deutlicher

Unterschied zwischen MuLV(Friend)-infizierten Mäusen und Kontrollen ist bei der Applikation von kleineren Antigenmengen zu beobachten [Wedderburn und Salaman, 1968].

Ähnliche Studien wurden in den sechziger Jahren von verschiedenen Forschern mit verschiedenen Retroviren der Maus, nämlich dem Rauscher Leukämievirus, dem Moloney Leukämievirus sowie Gross-Leukämievirus und bei AKR-Mäusen mit spontaner Leukämie durchgeführt; die Ergebnisse zeigten, dass auch bei diesen Leukämietypen eine Immunsuppression vorhanden war.

Die für eine Immunsuppression beweisenden Phänomene, die bei diesen Experimenten beobachtet wurden, sind in Tabelle 2.2 aufgelistet.

**Tabelle 2.2 Experimentelle Beobachtungen über Immunsuppressive Wirkungen bei Infektion mit Mäuseleukämieviren (nach Dent, 1972, modifiziert).**

**Wirkung auf die humorale Immunität**

- Verminderte Antikörpertiter
- Verminderte Anzahl antikörperproduzierender Zellen
- Verminderter Serum IgA-Spiegel
- Verminderte IgG-Synthese
- Verminderte Heterogenität der IgG in der Elektrophorese (unreifes Muster)
- Verzögerte anaphylaktische Reaktion
- Verminderte Plasmazellen-Zahlen
- Verminderte Kontakthypersensitivität

**Wirkung auf die Zelluläre Immunität**

- Verminderte Lymphozytenzahlen
- Verminderte Granulombildung bei der Implantation von Schistosomaeiern
- Erhöhte Empfindlichkeit für Virusinfektionen
- Verminderte Abstossungsrate von Tumoriimplantaten
- Verspätung der Transplantatrejektion
- Verminderte in vitro Lymphozytenstimulierbarkeit

Mehrere dieser Phänomene wurden von verschiedenen Autoren auch bei FeLV infizierten Katzen festgestellt (s. Kapitel 2.1.8.2.2).

**2. 1. 8. 2. 2 Immunsuppressionsmechanismen bei FeLV-Infektion**

Die unter Feldbedingungen gemachten tierärztlichen Beobachtungen über FeLV-bedingte Immunsuppressionszustände stießen bei verschiedenen Forschergruppen auf grosses Interesse. Sie gaben Anlass zu zahlreichen Experimenten und weiteren Beobachtungen, mit welchen die Mechanismen der durch FeLV-bedingten Immunsuppression abgeklärt werden sollten. Im Folgenden werden die wichtigsten Befunde kurz erwähnt.

Perryman et al. (1972) beobachteten, dass Hauttransplantate von neonatal mit FeLV infizierten Katzen länger toleriert wurden als von nichtinfizierten Kontrolltieren. Lymphozyten, welche von FeLV-virämischen Tieren gewonnen worden waren, zeigten vermindertes Concanavalin A-"Capping"[Dunlap et al., 1979]. Kobilinsky und Mitarbeiter (1979) stellten fest, dass mit FeLV infizierte Katzen, welche gleichzeitig an einem

Lymphosarkom erkrankt waren, tiefe Komplementspiegel aufwiesen. Sie postulierten, dass das Komplement bei solchen Tieren durch zirkulierende Antigen-Antikörperkomplexe oder aber direkt durch das FeLV verbraucht werde. Dubey et al., stellten 1982 fest, dass menschliche, mit FeLV infizierte B-Zelllinien in grösserem Ausmass von Killerzellen phagozytiert wurden als nicht infizierte Zellen. Dagegen wurden T-Tumorzelllinien viel weniger vernichtet, wenn sie FeLV-infiziert waren. Das könnte eine Erklärung sein, für die in vivo beobachtete Unfähigkeit des Immunsystems der Katze, infizierte T-Lymphozyten zu zerstören. Das Auftreten von Tumoren, die hauptsächlich von T-Lymphozyten abstammen und bei Jungkatzen beobachtet werden, liesse sich ebenfalls durch diese Beobachtung erklären. Langweiler et al. (1983) zeigten, dass FeLV-Proteine die stimulierende Wirkung von Concanavalin-A auf Lymphozyten gesunder Katzen, zu hemmen vermögen. Die Autoren vermuteten, dass FeLV-Proteine eine spezifische Subpopulation der T-Suppressorzellen stimulieren könnten. Kiehl et al. (1987) zeigten, dass neutrophile Granulozyten von FeLV-virämischen, klinisch kranken Katzen in einem Chemotaxis-Test weniger stark reagierten, als dies bei Zellen gesunder Tiere der Fall war. Verschiedene Autoren konnten zeigen, dass mit ultraviolettem Licht bestrahltes und gereinigtes FeLV sowie das gereinigte FeLV-p15E die mitogene Wirkung von Lektinen und Alloantigenen<sup>1</sup> auf Mäusesplenozyten hemmen. Ebenfalls gehemmt wird die Alloantigen-induzierte T-Zell-vermittelte Zytotoxizität [Mathes et al., 1978, Hebebrand et al., 1979, Orosz et al., 1985]. In vitro hemmt FeLV die Sekretion von Lymphokinen durch T-Lymphocyten [Wainberg et al., 1983], ebenso wird durch FeLV der Effekt von Lymphokinen auf Lymphozyten gehemmt [Copelan et al., 1983].

Die Struktur von FeLV p15E und der Transmembranproteine anderer Retroviren ist sehr ähnlich [Cianciolo et al., 1985]. Die immunsuppressive Wirkung des p15E wird dadurch unterstrichen, dass es nicht nur die T-Zellantwort von Katzen, sondern auch diejenige muriner und menschliche Lymphozyten zu hemmen vermag. So konnten Cianciolo et al. (1985) zeigen, dass die Proliferation von einer Interleukin 2-abhängigen T-Zelllinie sowie durch Alloantigene stimulierte murine und menschliche Lymphozyten durch ein synthetisches, zum p15E homologes Peptid mit der Bezeichnung CKS17 gehemmt wird. Ferner konnte gezeigt werden, dass das an BSA gekoppelte Peptid CKS17 die Freisetzung von O<sub>2</sub>-Radikalen durch menschliche Monocyten nach Stimulation mit "wheat germ agglutinin" und Cytochalasin E zu hemmen vermag [Harrel et al., 1986]. Goitsuka et al., konnten 1987 nachweisen, dass die Interleukin 2-Produktion von mit Concanavalin-A stimulierten Lymphozyten aus dem peripheren Blut FeLV-infizierter Katzen, stark reduziert ist. Bei FeLV-infizierten Tieren sind aber nicht nur die Lymphozyten gehemmt, auch die Funktion der neutrophilen Granulozyten wird durch FeLV beeinträchtigt. So konnten Lafrado et al. (1986) und Lewis et al. (1986) zeigen, dass neutrophile Granulozyten, welche von FeLV-virämischen und von FeLV-infizierten, jedoch immunen Katzen gewonnen worden waren, weniger gut in der Lage waren, oxidative Metabolite zu synthetisieren, als dies bei nicht infizierten Katzen der Fall war. Besonders Interessant ist hier die Beobachtung -sofern sie auch von anderen Gruppen wiederholt werden kann-, dass auch die Granulozyten jener Katzen gehemmt waren, welche erfolgreich über eine FeLV-Infektion hinweg gekommen waren. Mitani et al., wiesen 1987 nach, dass infektiöses und mit UV-Licht bestrahltes FeLV, nicht aber das CKS17, B-Lymphozyten zur IgG-Sekretion anregen. Dagegen hemmten diese 3 Präparate die durch Staphylokokken-Protein A-vermittelte B-Zell-Stimulation. Aus diesem Experiment konnten die Autoren schliessen, dass die

<sup>1</sup> Als Alloantigene wurden Lymphozyten aus DBA/2 Mäusen, die in Zellkulturen von C57BL/6 Mäusen normalerweise als fremd erkannt und lysiert werden, verwendet.

Eigenschaft des FeLV, die IgG Sekretion von Katzen-B-Lymphozyten zu hemmen, in einer Region der FeLV Hülle sitzt, die eine zum CKS-17 homologe Stelle aufweist. FeLV-infizierte, klinisch kranke Katzen zeigen eine stark verminderte lokale Antwort auf die Injektion von BCG [Pedersen 1987a]. Lymphozyten, welche aus dem peripheren Blut oder aus der Milz von FeLV-infizierten, klinisch gesunden und kranken Katzen gewonnen worden waren, sezernierten nach Stimulation niedrigere Mengen von Gammainterferon, als die entsprechenden Zellen von nicht infizierten Tieren [Yamamoto 1984].

### 2. 1. 8. 3 Impfversuche und Bestimmung der Antikörpertiter bei FeLV-infizierten Katzen

Der Effekt des FeLV auf das Immunsystem wurde auch in verschiedenen praxisnahen Experimenten abgeklärt. So immunisierten Perryman et al. (1972) und später Essex et al. (1975) FeLV-infizierte Katzen mit Schaferythrozyten. In beiden Studien wurden zwischen FeLV-infizierten Katzen und den Kontrollen keine Titerunterschiede beobachtet. Hardy (1982) konnte jedoch bei 5 FeLV-infizierten Katzen nach Applikation von niedrigeren Schaferythrozytenmengen (0.25 ml. einer 5%igen Suspension) viermal tiefere Antikörpertiter messen, als bei nicht infizierten Kontrollen. Bei 2 Katzen waren keine Antikörper gegen Schaferythrozyten messbar.

Trainin et al. (1983) und Wernicke et al. (1986) untersuchten die B-Lymphozytenantwort bei FeLV-infizierten Tieren. Sie stellten fest, dass FeLV-virämische und avirämisch gewordene Katzen nach Immunisierung mit einem synthetischen Peptid (T,G)AL (= (L-Tyrosin-L-Glutaminsäure)-poly-DL-Alanin-poly-L-Lysin) deutlich geringere Antikörpertiter erreichten, als gesunde Tiere. Zudem wurde das Titermaximum bei den infizierten Tieren später erreicht. Pedersen (1984) fand, dass FeLV-infizierte Katzen nach Applikation von Schaferythrozyten und Salmonellen Lipopolisacchariden mit einer abgeschwächten Immunantwort reagierten. Die in jener Arbeit untersuchten FeLV-infizierten, gesunden Katzen zeigten normale Spiegel von IgA, IgG und IgM, sowie normale Antikörpertiter gegen Rhinotracheitis-, Corona- und Calicivirus.

## 2. 2 Biologie des Tollwutvirus

### 2. 2. 1 Allgemeines

Das Tollwutvirus gehört zur Familie der Rhabdoviridae, hat einen Durchmesser von 75 nm und eine Länge von ungefähr 180 nm [Hummeler et al., 1967]. Das Viron besteht aus einem Nukleokapsid (RNP) und ist behüllt [Pinteric und Fenje, 1966]. Das Genom besteht aus einem negativen RNS-Einzelstrang, welcher aus rund 12 000 Basen aufgebaut ist und ein Molekulargewicht von ungefähr 4.5 Mio. Dalton aufweist [Sokol et al., 1969]. Die Virusvermehrung spielt sich Intrazytoplasmatisch ab. Im Zytoplasma infizierter Zellen kommt es zur Bildung von Einschlusskörperchen (Negri Körperchen) [Negri, 1903; Bosc, 1903].

### 2. 2. 2 Antigene Struktur

Das Virus besteht aus 5 Hauptkomponenten, nämlich den Antigenen: G, NS (=M1), M (=M2), N (=RNP) und L [Neurath et al., 1972; Cox 1982]:

Das Antigen G ist ein Glykoprotein von 67 kD Molekulargewicht, bildet die Virushülle und ist das einzige Glykoprotein, das auf der äussersten Oberfläche des Virus erscheint. Nur diese Komponente induziert virusneutralisierende Antikörper [Wiktor, 1973; Dietzschold et al., 1978]. Das Glykoprotein bestimmt den Serotyp und trägt mindestens einen Virulenzfaktor. Das Antigen NS (non structural) ist ein Phosphoprotein mit einem Molekulargewicht von 42 kD. Zusammen mit dem Nukleokapsid (N) ist es verantwortlich für die Organisation der viralen RNS. Das Antigen M (nucleocapsid) ist ein Protein von 58-62

kD und ist die Hauptkomponente des Nukleokapsid. Das Antigen I (large) ist mit einem Molekulargewicht von 190 kD das grösste Virusprotein; es stellt die Virustranskriptase dar. Das Antigen II hat ein Molekulargewicht von 25 kD, bildet die innere Oberfläche der Hülle und dient als Brücke zwischen Hülle und Nukleokapsid [Cox, 1982].

Vom Tollwutvirus sind heute verschiedene, natürlich vorkommende und im Labor selektionierte Stämme bekannt. Die WHO schlägt folgende serologische Einteilung des Genus *Lyssavirus* vor [WHO, 1984]:

Serotyp 1: Als Prototyp gilt der Laborstamm CVS 24; zu diesem Serotyp gehören fast alle Wild- und Laborstämme der ganzen Welt und die neulich isolierten Nagerstämme aus Zentraleuropa.

Serotyp 2: Der Prototyp dieses Serotyps ist der Stamm **Lagos bat**. Er wurde 1958 aus Fledermäusen in Nigeria von Boulger und Porterfield und später in der Zentralafrikanischen Republik isoliert. Rhesusaffen und Hunde, die mit diesem Virus infiziert wurden, erkrankten an einer tollwutähnlichen Krankheit [Tignor et al., 1973]

Serotyp 3: Als Prototyp gilt der Stamm **Mokola**. Dieser Stamm wurde aus Insektivoren der Gattung *Crociodura* in Nigeria isoliert. Gleichzeitig (in den Jahren 1968-1971) wurde das Virus aus 2 Kindern isoliert; ein Kind zeigte Konvulsionen und erholte sich; das andere Kind zeigte Symptome, wie sie bei Kinderlähmung auftreten und starb [Kemp et al., 1972]. Ebenfalls beschreiben Famili et al. (1972a,b) eine durch ZNS-Symptome charakterisierte Infektion mit tödlichem Ausgang bei einem Mädchen. Das Virus wurde bei Mensch und Tier in anderen afrikanischen Ländern isoliert [WHO, 1984]. Auch dieser Stamm führte experimentell bei Rhesusaffen und Hunden zu einer tollwutähnlichen Krankheit [Tignor et al., 1973].

Serotyp 4: Prototyp ist der Stamm **Duvenhage**. Dieser wurde aus einem Menschen in Südafrika und später aus Fledermäusen isoliert [WHO, 1984].

## 2. 2. 3 Natürlich vorkommende Stämme:

Es werden eigentliche Rabiesviren (Serotyp 1) und "rabies-like" oder "rabies-related" Viren (Serotypen 2, 3 und 4) unterschieden. Zu den Rabiesviren werden Karnivorenstämme und Fledermausstämme gerechnet. Ferner wurden im Jahre 1967 aus den Genera *Culex* in Nigeria und *Mansonia* im Sudan die 2 Arthropodenstämme Kotonkan [Kemp et al., 1973] bzw. Obodhiang [Schmidt et al., 1965] isoliert. Der Stamm Kotonkan repliziert in Insektenzellkulturen. Rinder aus dem Isolationsgebiet (Nigeria), sowie auch Nagetiere, Schafe, Pferde und Insektivoren weisen im Serum Antikörper auf, die dieses Virus neutralisieren [Kemp et al., 1973]. Der Obodhiang Stamm repliziert in Monolayer-Zellkulturen von Insekten [Buckley, 1973].

## 2. 2. 4 Laborstämme

Nach einer Vielzahl von Passagen wurden unter anderem folgende Laborstämme etabliert:

Virus fixe: als Virus fixe wird ein durch Passagieren in Kaninchen attenuiertes Strassenvirus bezeichnet [Pasteur, 1885].

CVS (Challenge Virus Standard): Die CVS-Stämme finden ihren Ursprung in einem von Pasteur 1882 aus einem Rind isolierten Stamm, der später in Mäusen und in BHK-Zellen weiterpassagiert wurde [Kissling, 1958].

Flury-Stämme: 1939 aus einem Mädchen namens "Flury" (Case F) isoliert und 136 mal in eintägigen Küken passagiert [Leach und Johnson, 1940; Koprowski und Cox, 1948; Koprowski und Black, 1950].

LEP (low egg passage): aus Flury Stamm, durch weitere 50-60 Eipassagen attenuiert.

HEP (high egg passage): aus Flury Stamm, durch weitere 180 Eipassagen attenuiert.

Kelev-Stamm: dieser wurde in Israel aus einem Hund isoliert und 100 mal in Hühnerembryonen passagiert [Komarov und Hornstein, 1953].

SAD (Street Alabama Dufferin): 1935 aus einem Hund isoliert und nach Mäusepassagierung in BHK-Zellen weiterkultiviert [Fenje, 1960a]

ERA: aus einem Hund isoliert (SAD Stamm), seit 1935 in Mäusen passagiert und später in primären Schweinenierenzellkulturen weiter attenuiert [Abelseth, 1964a].

## 2. 2. 5 Virustenazität

Das Virus ist durch Detergentien und lipophile Lösungsmittel sehr gut inaktivierbar; es ist Hitze- und UV-strahlenempfindlich. In Kadavern konnte noch nach 90 Tagen infektiöses Virus nachgewiesen werden [Remlinger 1918; Kissling und Reese 1963; Kuwert et al., 1968]. [Weitere Angaben über Tenazität, vgl. Hutya et al., 1959].

## 2. 2. 6 Wirtsspektrum

Das Virus kann alle Säuger infizieren, wobei jedoch die Empfänglichkeit tierartlich unterschiedlich ist und vom Virus abhängt (z.B. sind Hunde resistenter gegen ein an den Fuchs adaptiertes Virus als Füchse [Blancou et al., 1983]). Als höchstempfindlich gilt bei uns der Fuchs; dem Rind schreibt man eine hohe Empfänglichkeit zu; Hund, Katze, Schaf, Ziege, Pferd und der Mensch gelten als mittelgradig empfänglich [WHO 1973]. Über die Empfindlichkeit der Katze gehen die Meinungen auseinander (s. Tollwut bei der Katze).

## 2. 2. 7 Übertragung

Aristoteles schrieb im 4. Jahrhundert vor Christus, dass Tollwut durch Hundebisse auf den Menschen übertragen wird. Bereits 1804 konnte Zinke nachweisen, dass Tollwut durch den Speichel übertragen wird [Baer, 1975; Baer und Wandeler 1987].

## 2. 2. 8 Inkubationszeit

Beim Tier dauert die Inkubationszeit nach natürlichen Infektionen **10 bis 209 Tage** [Moore und Raymond, 1970]. Fekadu und Mitarbeiter (1982) konnten bei 17 mit einem äthiopischen Stamm experimentell infizierten Hunden eine Inkubationszeit zwischen 9 und 41 Tagen (Durchschnitt 18.6 Tg) feststellen. Nach dem Infizieren von 23 Hunden mit einem mexikanischen Stamm konnte die Forschergruppe Inkubationszeiten zwischen 12 und 69 Tagen (Durchschnitt 23.5) feststellen. Beim Menschen beträgt die mittlere Inkubationszeit 2-3 Monate und schwankt zwischen 10 Tagen und einem Jahr [Neunzig et al., 1987]; seltene, extrem lange Inkubationszeiten von 8, 11, 31 und 36 Monate werden in der Literatur beschrieben [Übersicht s. Debbie 1974].

Faktoren, die die Inkubationszeit beeinflussen sind:

- Inokulationsdosis [Soulebot et al., 1981]
- Distanz zwischen Gehirn und Inokulationsstelle und
- Innervierung der Inokulationsstelle [Wachendörfer 1968]
- Inokulationsstelle. Bei der Katze zum Beispiel ist die Inkubationszeit bei experimenteller Inokulation in die Massetermuskulatur länger, als bei Applikation in die Nackenmuskulatur [Soulebot et al., 1981].



## 2. 2. 9 Klinische Symptome

Der Krankheitsverlauf wurde beim Menschen in 3 Stadien nämlich **Prodromal-, Excitations- und paralytisches Stadium** unterteilt. Hattwick und Gregg (1975) unterteilten den klinischen Verlauf in 5 Phasen; wobei auch Inkubationszeit und Heilung berücksichtigt wurden. Die Exzitationsphase wurde von den Autoren akute neurologische Phase, und die paralytische Phase Koma benannt. Sie beschrieben einen hypothetischen Verlauf, der aus dem Zusammenstellen von Symptomen aus verschiedenen klinischen Fällen entstanden ist. Hutyra und Mareck (1905, 1959) übernahmen die Einteilung für den Hund (Stadium prodromum sive melancholicum, Stadium excitationis sive acmes, Stadium paralyseos sive depressionis). Beim Tier -und zum Teil auch beim Menschen [Neunzig et al., 1987]- lassen sich diese Phasen in der Regel nicht klar voneinander abgrenzen. Wesensveränderungen, wie sie im Prodromalstadium des Menschen auftreten, treten beim Tier nicht immer deutlich auf. Die Excitationsphase wird bei verschiedenen Tierarten nur ausnahmsweise beobachtet. Bei Hund, Rind und Schaf kennt man vor allem die sogenannte stille Form. Bei der Katze scheint das Auftreten der rasenden Wut häufiger zu sein, als bei anderen Tierarten. Exzitation und Aggressivität sind jedoch selten spontan; sie werden viel mehr durch äussere Reize ausgelöst [Wachendörfer 1968; Artois et al., 1984].

Häufig beobachtete Symptome, die bei allen Tieren auftreten können sind:

- Verhaltensänderungen, erhöhte Erregbarkeit, Aggressivität
- Inappetenz und/oder Allotriophagie
- Lähmungserscheinungen wie Schluckbeschwerden, progressive Paralyse der Extremitäten, Gleichgewichtsstörungen, gestörte Pupillarreaktion, Anisokorie, Stimmveränderungen, Pseudoptilismus, Kieferlähmung
- Ptialismus

Nach Rolle und Mayr (1978) beträgt die Krankheitsdauer in der Regel 1 bis 7 Tage. In den Experimenten von Vaughn et al. (1963) starben die Katzen 1 bis 8 Tage nach Auftreten der ersten klinischen Symptome. Im Experiment von Jäger und Barth (1979) dauerte die Krankheit bei 89% der Tiere (26 von 29 Katzen) 3 Tage, bei 2 Katzen 4 und bei einer 6 Tage. Wachendörfer (1968) gibt für den Hund eine Krankheitsdauer von 2-4 bis maximal 8 und für das Rind von 2-5 Tagen an. Bei 34 von Fekadu und et al. (1982) experimentell in die Massetermuskulatur infizierten Hunden dauerte die Krankheit zwischen 0 und 7 Tagen.

## 2. 2. 10 Epizootologie

Tollwut kommt in der ganzen Welt ausser in Australien, der Antarktis, Grossbritannien, Scandinavien und Japan vor [Baer und Wandeler, 1987].

Man unterscheidet 3 epidemiologische Formen: eine **urbane**, eine **sylvatische** und eine **Fledermausform** (Paralyssa). Bei der urbanen Form sind Hunde die Träger der Infektkette, andere Haus- und die Nutztiere fungieren als Endglieder. Diese Form ist aufgrund der hohen Populationsdichte der Hauptvirusträger durch eine sehr hohe Ausbreitungsgeschwindigkeit charakterisiert. Die Gefahr einer Ansteckung des Menschen ist gross. Diese Form trat im Seuchenzug um 1920 in Europa auf [Rolle und Mayr, 1978].

Bei der sylvatischen Form bilden wildlebende Karnivoren das Virusreservoir (Rotfuchs und Marderhund in Europa, Fuchs; Stinktier und Waschbär in Amerika, Wolf und Fuchs in Asien, und Schakale und

Schleichkatzen in Afrika). Als Endwirte fungieren wildlebende Pflanzenfresser, kleine Nager, Vögel, Hasenartige und Omnivoren. Die Ausbreitungsgeschwindigkeit ist kleiner als bei der urbanen Form. Die Fledermausform kommt vor allem in Mittel- und Südamerika vor und wird von hämatophagen Fledermausarten getragen. Zunehmend wird Tollwut auch bei nicht blutsaugenden Fledermausarten in Europa diagnostiziert. Diese Tiere werden häufig nur subklinisch krank. Die Endwirte sind Menschen und Herbivoren [Rolle und Mayr, 1978].

In der Schweiz ist zur Zeit nur die sylvatische Form von Bedeutung. Träger der Infektkette ist vor allem der Rotfuchs (*Vulpes vulpes*). Haustiere, die Kontakt zur Wildbahn haben (Katzen, Rinder, Hunde) sind dabei die Endwirte und sterben (oder werden getötet) meistens, ohne als Überträger eine Rolle gespielt zu haben. Da die Krankheit beim Menschen fast ausnahmslos tödlich verläuft, wird jeder Kontakt mit einem Tier, das aggressiv ist oder ein atypisches Verhalten zeigt, als Gefährdung angesehen.

Im Gegensatz zu anderen Ländern, spielt in der Schweiz die Katze (bezüglich Gefährdung der Menschen), seitdem die Impfung der Hunde obligatorisch ist und konsequent durchgeführt wird, eine wichtige Rolle (siehe Kap.2.3.2). Auch in Gebieten mit Wildtollwut müssen die Katzen nicht immer obligatorisch geimpft werden. Vor allem Katzen mit Jungen und Kater jagen in grossen Revieren wie Wiesen und Wäldern, bei dieser Gelegenheit können sie durch Kontakt mit Wildtieren -vor allem dem Fuchs- infiziert werden. Da solche Katzen oft auch einen intensiven Kontakt mit dem Menschen haben und bereits vor dem Auftreten klinischer Symptome Virus ausscheiden können [Vaughn et al., 1963], stellen sie für den Besitzer eine grosse Gefahr dar.

## 2. 2. 11 Pathogenese

Im Anschluss an die Inokulation (meistens Bissverletzung) spricht man von einer **extraneuralen Phase** der Infektion, bei der das Virus in den quergestreiften Muskelzellen repliziert. Nach einer von Fall zu Fall unterschiedlich langen Zeit (in dieser Phase wird hauptsächlich die Inkubationszeit bestimmt) gelangt der Tollwuterreger durch den Extrazellulärraum in die Muskel- und Sehnenfasern, womit die **Intraneurale Phase** beginnt. Einmal in den peripheren Nervenfasern angelangt, breitet sich die Infektion zentripetal relativ schnell aus ins Rückenmark und ins Gehirn [Murphy et al., 1973]. In der anschliessenden **zentrifugalen Phase** gelangt das Virus durch die Nervenbahnen in die Peripherie. Erregernachweis ist gelegentlich in allen Organen möglich [Debbie und Trimarchi, 1970; Phaseneinteilung nach Schneider und Schoop, 1972].

## 2. 2. 12 Folgen der Virusinokulation

Nach Exposition sind 3 Verlaufsformen möglich, die nachfolgend kurz charakterisiert werden:

### A Die Inokulation führt nicht zur Infektion

Diese Verlaufsform tritt dann ein, wenn zuwenig Virus aufgenommen wird, wenn die Inokulationsstelle für das Virus ungünstig ist oder die Rezeptoren für das Virus durch inaktive Viruspartikel besetzt werden. Soulebot et al.(1981) konnten bei 7 Katzen, die eine massive ( $10^{4.43}$  bis  $10^{4.85}$  ML<sub>Dic50</sub>) und bei 4 Katzen, die eine viel niedrigere Virusmenge in die Masseter- oder im oberen Drittel der Nackenmuskulatur erhalten hatten und nicht erkrankten, keine Antikörper nachweisen.

### B Die Inokulation führt zu Erkrankung und Tod

In der Regel führt die Erkrankung zum Tod. Experimentell infizierte Hunde hatten in einem Experiment von Fekadu und Baer (1980) beim Auftreten der ersten Symptome keine Antikörper im Blut. Bei diesen Tieren

konnte man aber -falls die Krankheit länger als 8-10 Tage dauerte- eine Serokonversion beobachten. Bei experimentell infizierten Katzen wurden von Artols et al.(1984) sehr niedrige Antikörpertiter gemessen. Beim Menschen treten Antikörper im Serum im einem fortgeschrittenen Krankheitsstadium auf (bei 4/8 Patienten nach 5-8 Tagen, bei 6/9 Patienten nach 9-12 Tagen, bei 17/17 Patienten ab 13 Tagen nach Beginn der Krankheit) [Anderson et al.,1984]. Die Serokonversion kann aber auch fehlen [Neunzig et al.,1987].

### C Die Inokulation führt zu Erkrankung und Heilung

Dieser Verlauf wird ausserordentlich selten beobachtet. Nach Hattwick et al. (1972) sind dazu in der Literatur mindestens 10 Fälle beim Menschen beschrieben worden, die zwischen 1875 und 1972 aufgetreten waren. Bei den wenigen beschriebenen Fällen beim Menschen kam es nicht immer zu einer *restitutio ad integrum*. Die überlebenden Patienten hatten hohe Serumtiter virusneutralisierender Antikörper [Hattwick und Gregg, 1975; Mayr et al.,1984]. In der Literatur wurden zwischen 1882 und 1986 neun Fälle beschrieben, in denen Hunde die Tollwuterkrankung überlebten [Fekadu und Baer, 1980]. Bei den 2 experimentell infizierten Hunden von Fekadu und Baer, welche die Infektion überlebten, traten erst nach 8-10 Tage nach Auftreten der ersten Symptome sehr hohe Titer neutralisierender Antikörper auf. Beim Tier ist eine Behandlung gesetzlich verboten. Nach der schweizerischen Tierseuchenverordnung Art. 44.3 müssen Haustiere mit verdächtigen Erscheinungen eingesperrt und während 10 Tagen beobachtet werden; dagegen sind tollwutkranke Tiere sofort zu töten. Vereinzelt wurden ferner latent infizierte Hunde (Tiere die nach Heilung im Speichel Virus ausscheiden) beobachtet [Fekadu et al., 1969, 1981; Veerarahavan et al., 1969].

## **2. 2. 13 Impfung**

### **2. 2. 13. 1 Allgemeines**

Die ersten Impfungen gegen Tollwut wurden von Pasteur um die Wende des 19. Jahrhunderts beim Hund durchgeführt. 1895 konnte er ein Kind durch postexpositionelle Impfung retten. Diese Impfung bestand in der Injektion einer Suspension, die luftgetrocknetes Rückenmark von mit "virus fixe" infizierten Kaninchen enthielt. Fermi verwendete 1908 Hirngewebe aus mit Virus fixe infizierten Schafen oder Ziegen. Das Virus in dieser Suspensionen wurde durch kleine Mengen von Phenol partiell inaktiviert. Semple (1911) produzierte den ersten Totimpfstoff, indem er die Phenolmenge erhöhte. In den zwanziger Jahren wurde der erste Impfstoff zur Anwendung beim Hund hergestellt: Es handelte sich um ein durch Chloroform inaktiviertes Virus [Umeno und Dol, 1921]. Hempt (1925) verwendete Äther als Inaktivierungsmittel, um einen partiell inaktivierten Impfstoff zu erhalten. Später verwendete man mit Äther inaktivierte Impfstoffe für Massenimpfungen in den U.S.A. [Kelser, 1931]. Diese Impfstoffe der "frühen Generation" enthielten bis 10% Nervengewebe; das darin enthaltene Myelin führte zur Bildung von Autoantikörper und in Einzelfällen zur Autoimmundemyelinisierung. Aus diesem Grund begann man das Virus in neugeborenen Tieren und später in Enten- und Hühnerembryonen zu züchten [Fuenzalida und Palacios, 1955]. Durch die mehr oder weniger lange Passagierung des Virus kam es zum Verlust der Virulenz, sodass man bei der Anwendung beim Tier auf eine Inaktivierung durch chemische oder physikalische Mittel verzichten konnte. So entstanden durch die 50-malige Übertragung des Flury Stammes in Hühnerembryonen der Flury-LEP-Stamm [Koprowski und Black, 1950], welcher beim Hund angewendet wurde, und durch 183-maliges Passagieren der für die Impfung von Hunden, Katzen und Rindern verwendete Flury-HEP-Stamm [Koprowski, 1954]. Der nächste Schritt bestand in der Herstellung von Antigen in Zellkulturen; zuerst in

lierischen Zellen [Fenje, 1960a,b], und dann in humanen diploiden Fibroblasten. Der beim Tier verwendete ERA-Stamm entstand 1964 durch Adaptierung des SAD-Stamm an BHK-Zellen [Abelseth, 1964]. Heute wissen wir, dass die Impfung einen nahezu absoluten Schutz gegen Tollwut bietet. Virusneutralisierende Antikörper erscheinen bereits einige Tage nach der Impfung mit Lebendimpfstoffen und etwas später bei der Impfung mit Totimpfstoffen oder gereinigtem Glykoprotein. Der Antikörpertiter zeigt eine gute Korrelation mit dem Schutzgrad [Kleny et al., 1987]. Die Wirkung des durch die Impfung erzeugten Schutzes dauert mindestens 1 Jahr, in vielen Fällen jedoch wesentlich länger [Mayr et al., 1984]. So zeigten Lawson und Crawley (1972), dass Hunde und Katzen die 5 bzw 4 Jahre vorher mit ERA-Impfstoff geimpft worden waren, nach experimenteller Testinfektion immer noch gut geschützt waren: 13 von 14 Hunden und 8 von 8 Katzen überlebten eine Belastungsinfektion von  $10^{5.4}$  MLDic50. Bei den Kontrolltieren war die Überlebensrate wesentlich geringer (5 von 14 Katzen, 1 von 10 Hunden). Wurden für die Testinfektion  $10^{6.9}$  MLDic50 verwendet, so überlebten von 10 Hunden, welche 4 Jahre vorher mit der ERA-Vakzine geimpft worden waren, 7 Tiere, während in der Kontrollgruppe alle 9 Tiere starben.

Alle Impfstoffe werden heute parenteral appliziert (intramuskulär und subkutan); nur die für die Fuchsimpfung verwendeten Lebendimpfstoffe werden peroral in einem Köder appliziert [Steck et al., 1978, 1982].

## 2. 2. 13. 2 Lebendimpfstoffe

In der von Mayr et al. (1984) gemachten und nachfolgend zitierten Aussage ist die Grundlage der Herstellung und Verwendung von Lebendimpfstoffen dargelegt:

*"Das Tollwutvirus verliert mehr und mehr seine Virulenz für Versuchs- und Haustiere, wenn es laufend in bestimmten Wirtssystemen unter Umgehung des natürlichen Infektionsmodus in kurzfristigen Passagen weitergeführt wird. Dabei behält es über eine bestimmte Anzahl von Passagen seine immunisierenden Eigenschaften bei, [ . . . ]."*

Bei der Herstellung von Lebendvakzinen werden heute meistens die Stämme Flury (HEP und LEP) oder SAD verwendet. Als Substrate für die Virusvermehrung dienen meistens Hühner- oder Entenembryonen und Fibroblastenkulturen (z.B. BHK-Zellen). Lebendimpfstoffe verursachten in Ausnahmefällen nachgewiesen und beschrieben bei 11 Hunden, 4 (ev. 5) Katzen und einem Fuchs Tollwut [Esh et al., 1982; Bellinger et al., 1983; Sharpee und Beckenhauer, 1984; Whetstone et al., 1984]. An der schweizerischen Tollwutzentrale wurde bei allen tollwütigen Tieren überprüft, ob es sich beim Isolat um ein Impfvirus handeln konnte, falls der Begleitbericht so etwas vermuten liess. Vor 1978 wurde bei je einem Hund Flury-LEP und ERA, und bei 2 Rindern ERA nachgewiesen [Wandeler, 1989]. Aus diesem Grund wurde die Anwendung von Lebendimpfstoffen in vielen Ländern untersagt.

## 2. 2. 13. 3 Totimpfstoffe

Bei den heute gebräuchlichen Totvakzinen handelt es sich meistens um durch  $\beta$ -Propiolaktone oder Äthylmercurin inaktiviertes Virus. Die Impfstoffe enthalten beim Tier ein Adjuvans (meistens Aluminiumhydroxid) und liegen in Suspension vor; die für den Menschen bestimmte Vakzinen enthalten meistens kein Adjuvans und liegen in lyophilisierter Form vor. Die Produktion des Antigen erfolgt in Hühner- oder Entenembryonen oder in Zellkulturen (Vero, BHK, humane diploide Fibroblasten u.a.). Die modernen Totimpfstoffe bieten -wenn die enthaltene Antigenmenge hoch genug ist- einen ebenso guten Schutz wie Lebendvakzinen. Kihm und Mitarbeiter (1982) beobachteten, dass Katzen nach Vakzination mit einem

Totimpfstoff höhere Antikörpertiter produzierten und besser geschützt waren als Tiere, welche mit einem Lebendimpfstoff (SAD) geimpft worden waren. Lawson and Crawley (1972) beschrieben, dass der ERA-Impfstoff (Lebendvakzine) bei der Katze höhere Tollwutantikörpertiter und besseren Schutz gegen Strassenvirus induziert, als der Lebendimpfstoff Flury HEP. Ein nicht weiter charakterisierter Totimpfstoff (wahrscheinlich ohne Adjuvans) ergab Resultate, die mit denen der ERA-Vakzine vergleichbar waren. Die nachstehende Tabelle veranschaulicht die Schutzwirkung der drei Vakzinen bei verschiedenen Verdünnungen. Gemessen wurde die Überlebensrate 5 Wochen nach Impfung, bei Testinfektion in der Glutäalmuskulatur mit 10<sup>5.9</sup> MLDic50 Strassenvirus:

**Tabelle 2.3 Überlebensrate von Katzen nach Vakzination mit verschiedenen Impfstoffen und nachfolgender Testinfektion [nach Lawson und Crawley, 1972, modifiziert]**

Verdünnung der Vakzine	ERA	Flury-HEP	Totimpfstoff
unverdünnt	10/10	5/10	10/10
1/10	9/9	1/10	10/10
1/100	8/10	0/10	2/5
1/1000	4/10	5/10	n.d.

Bei den Kontrollen überlebten 3 von 11 Katzen.

#### 2. 2. 13. 4 Spaltvakzinen

Heute versucht man Tollwutimpfstoffe herzustellen, die für den Organismus noch verträglicher sind. Diese Möglichkeit liess sich durch die Beobachtung ableiten, dass gereinigtes G-Protein unter experimentellen Bedingungen einen Schutz gegen Tollwut zu vermitteln vermochte [Dietzschold et al., 1978]. Perrin und Mitarbeiter (1984) untersuchten die Wirkung einer Vakzine, bestehend aus sogenannten **Immunsomen** (G-Protein, das an Liposomen gebunden war). Diese Art von Impfstoff zeigte im NIH-Test eine gute Immunogenität und konnte juvenile Hamster postexpositionell in einem ähnlichen Prozentsatz (zirka 60 %) schützen wie eine Referenzvakzine.

#### 2. 2. 13. 5 Gentechnologisch hergestellte Rekombinationsvakzine

Die Impfung von Mäusen durch Hautskarifikation mit einer Vacciniavirus Rekombinante (VVTGgRAB), die die genetische Information für das Tollwutvirusglykoprotein enthielt, vermochte hohe Titer neutralisierender Antikörper und Schutz gegen Strassenvirus zu induzieren [Kieny et al., 1987]. Drei von 4 mit der Lebendrekombinante geimpfte Kaninchen, 24 von 24 Mäusen, sowie 36 von 36 Hamstern, die mit der abgetöteten Rekombinante (V-RG pro 8) geimpft wurden, waren gegen eine Tollwutinfektion geschützt [Wiktor et al., 1984]. Die Vaccinia Rekombinante wurde von Blancou et al. (1986) auch beim Fuchs getestet. Die peroral, subkutan und intradermal geimpften Füchse waren gegen eine experimentelle Tollwutinfektion geschützt. Auch die durch  $\beta$ -Propiolakton inaktivierte Rekombinante induziert bei der Maus hohe Antikörpertiter und guten Schutz [Wiktor et al., 1984]. Die Harmlosigkeit der lebenden Vacciniarekombinanten ist zuzeit noch nicht gesichert. Es sind darum noch weitere Untersuchungen notwendig, bevor diese Impfstoffe im Handel erhältlich sein werden.

## 2. 3 Tollwut bei der Katze: Besonderheiten und Bedeutung.

### 2. 3. 1 Empfänglichkeit

Über die Empfänglichkeit der Katze für das Tollwutvirus gehen die Meinungen stark auseinander: Nach Berichten der WHO (1973) ist die Katze für das Tollwutvirus hochempfindlich. Vergleichenden Versuche des französischen "Centre national d'études sur la rage" mit dem Wildstamm "GS/7" ergaben dagegen, dass die LD<sub>50</sub> bei der Katze ( $10^5$  MLDic<sub>50</sub> in die Nackenmuskulatur) dreissig mal höher liegt als beim Rind ( $10^{3.5}$  MLDic<sub>50</sub> M. Masseter), 400 mal höher als bei der Maus ( $10^{2.4}$  MLDic<sub>50</sub> M. Masseter) und 300'000 mal höher als beim Fuchs ( $10^{0.5}$  MLDic<sub>50</sub> M. Temporalis) [Artois et al., 1984]. Kihm und Mitarbeiter (1982) konnten jedoch mit  $10^{4.5}$  MLDic<sub>50</sub> vom NYC-GA-Stamm 16/16 Katzen töten

### 2. 3. 2 Gefährdung des Menschen

Theoretisch ist die Bedeutung der Katze als Tollwutvektor sehr gering. Es wurde berechnet, dass durch den Biss eines tollwütigen Fuchses ungefähr 3000 MLDic<sub>50</sub> übertragen werden können; eine Menge, die nicht genügt um eine Katze zu infizieren [Artois et al., 1984]. Ein anderes Bild ergibt sich aber, wenn man die Zahlen von an Tollwut erkrankten Katzen mit jenen anderer Tierarten vergleicht. Von Perry (1987) wurde angegeben, dass im Jahre 1984 8% der Tollwutfälle, die vom "Center for disease control" der Vereinigten Staaten diagnostiziert wurden, bei Haustieren aufgetreten sind. Von diesen 8% waren 31% Katzen (2.4%), 21% Hunde (1.7%) und 34% Rinder (2.7%). In der Schweiz wurden zwischen 1967 und 1978 42'481 Tiere auf Tollwut untersucht; 9461 erwiesen sich als tollwut-infiziert. In 88% der Fälle (8368 Tiere) handelte es sich um Wildtiere (mit einem Anteil an Füchsen von 77%). Beim restlichen 12% (1093 Tieren) handelte es sich um Haus- und Zootieren. Von diesen 12% waren 4.2% (397 Tiere) Katzen, 3.5% Rinder, 2.7% Schafe und 0.5% Hunde [Steck et al., 1980]. Die Bedeutung der Katze als Ursache für eine postexpositionelle Impfung des Menschen ist in der Schweiz erstaunlich hoch, was durch die nachstehende Tabelle belegt ist.

**Tabelle 2.4 Rolle der Katze bei der postexpositionellen Impfung des Menschen [nach Steck et al., 1980, modifiziert].**

Ort	Schweiz	Südhessen	Nordrhein-Westfalen
Zeit	1967-1978	1953-1975	1972
Totalzahl der Impfungen	318	232	17
Prozentsatz der Geimpften mit Kontakt zu Katzen	77	17	15
Diagnose beim Tier	TW-positiv	TW-positiv	TW-positiv od.-verdächtig
Quelle	Steck et al., 1980	Schale, 1975	Bögel et al., 1975

Bei den an Tollwut gestorbenen Menschen waren Katzen von unterschiedlicher Bedeutung.

In 4 von 39 Tollwutfällen bei Menschen, welche zwischen 1950 und 1965 in Deutschland registriert worden waren, liess sich die Infektion auf einen Katzenbiss zurückführen [Wachendörfer 1968].

In Ungarn waren von 25 menschlichen Tollwutfällen 15 durch Katzen verursacht worden [Süveges et al., 1961]. In der Schweiz starben von 1967 bis 1977 3 Menschen an Tollwut (alle im Jahre 1977). In einem Fall war die Ursache wahrscheinlich ein Katzenbiss [Steck et al., 1980]. Auch in den letzten Jahren wurde der Katze immer noch eine grosse Bedeutung zugemessen. Im Jahre 1987 wurden 195 Katzen an die schweizerische Tollwutzentrale in Bern eingesandt mit der Anamnese "Menschengefährdung", von diesen waren 2 Tiere positiv. Laut WHO Berichten sind in den Jahren 1969-75 in Europa 59 menschliche Tollwutfälle aufgetreten, davon wurden 5 durch Katzen verursacht [Steck et al., 1980].

### 2. 3. 3 "Rasende Wut"

Bei der Katze scheint die rasende Form der Tollwut häufiger vorzukommen als bei anderen Tierarten:

80 % der in der Schweiz zwischen 1967 und 1978 an Tollwut gestorbenen oder getöteten Katzen (d.h. 200 von insgesamt 251) zeigten aggressives Verhalten, während bei 18% (45 Tiere) die progressiv paralytische Form auftrat [Steck et al., 1980]. Aufgrund einer Analyse von Untersuchungsberichten des Staatlichen Veterinäruntersuchungsamtes in Frankfurt stellte Wachendörfer (1968) fest, dass bei der Katze die rasende Wut in rund 80% der Fälle auftrat, während beim Hund der Prozentsatz bei 21,8 lag. Vaughn und Mitarbeiter (1963) infizierten 86 Katzen mit verschiedenen Tollwutvirusstämmen; von 26 erkrankten Tieren zeigten 18 die rasende Form (69%). Soulebot et al. beobachteten 1981 bei 21 von 31 experimentell infizierten und erkrankten Katzen die rasende Form (70%). Kihm et al. (1982) stellten die rasende Form in 70% der 16 mit dem NYC-Stamm infizierten Katzen fest. Artois und Mitarbeiter (1984) beobachteten bei der Katze nach Inokulation mit dem Wildstamm GS/7 wenig ausgeprägte Symptome. Die Katzen neigten vor allem dazu, sich in den Käligen, aber auch in Räumen in einer Ecke zu verkriechen, aggressives Verhalten war jedoch durch Provokation auslösbar.

### 2. 3. 4 Impfung

*"Der Impfschutz scheint bei der Katze nicht die gleiche Sicherheit zu bieten wie beim Hund"* [Steck et al., 1980]. Nach Dr.P.A. Schneider (1980) waren im Kanton Waadt unter 111 an Tollwut erkrankten Katzen 18 gegen Tollwut prophylaktisch geimpft [Steck et al., 1980]. Eine grosse Rolle bei der erfolgreichen Immunisierung der Katze scheint ihre Herkunft zu spielen. Streunende Katzen hatten durchschnittliche Serumantikörpertiter, die nur 25% der Titer von SPF-Katzen nach einer einmaligen Impfung mit einem adjuvierten Impfstoff entsprachen. In einem Vergleich zwischen Hauskatzen und streunenden Katzen, die mit einem adjuvierten Impfstoff geimpft worden waren, war der Unterschied noch deutlicher (Titerverhältnis von 100 zu 8.5). Die Katzen waren in dieser Studie FeLV-negativ [Blancou et al., 1986]. Es ist schwierig, die Resultate der experimentellen Untersuchungen über die Wirkung von Tollwutimpfstoffen bei der Katze zu vergleichen. Der Impferfolg hängt nicht nur vom Impfstoff, sondern auch von den experimentellen Bedingungen ab, unter denen der Impfstoff getestet wird (Impfalter, Zeitraum zwischen Impfung und Belastungsinfektion und dafür verwendetes Virus usw.). In Experimenten von Abelseth (1964b, 1967) über die Schutzwirkung der ERA-Vakzine bei verschiedenen Tierarten (Katze, Hund, Rind, Ziege und Pferd) war die Katze die einzige untersuchte Tierart, bei der ein 100%iger Schutz nicht erreicht werden konnte (Es überlebten dabei 45 von 48 geimpften Katzen). Andererseits war die Katze auch die einzige Tierart, bei der nicht alle Kontrollen starben (23 der 25 ungeimpften Kontrollen starben). Bei Versuchen von Lawson und Crawley (1972) war der erreichte Impfschutz mit dem Lebendimpfstoff ERA 100% bei der Katze (8/8) und weniger als 100% beim Hund (13/14). In einem früheren Experiment von Lawson, Walker und Crawley

(1967) mit Rindern, Hunden und Katzen waren wiederum nur 9 von 10 Katzen geschützt. Kihm und Mitarbeiter (1982) infizierten mit dem Tollwutvirusstamm NYC-GA insgesamt 24 geimpfte Katzen. Von den 16 mit inaktivierter adjuvierter Vakzine überlebten 15, von den 8 mit ERA Lebendimpfstoff geimpften Katzen nur 3. Alle 16 Kontrollen starben. Bunn (1987) analysierte die Antikörpertiter von Katzen aus verschiedenen Experimenten, welche Testinfektionen nicht überstanden; 16.4% (31) von 189 Katzen mit Titer unter 5 IU starben. Bei 104 Tieren mit Titer zwischen 5 und 9 IU starben 7.7% (8 Tiere), während die Mortalität bei 222 Katzen mit Titer höher als 40 IU. 0.5% (1 Tier) war.

### **2. 3. 5 Durch Impfstoffe verursachte Tollwuterkrankung**

Eriewein beschrieb im Jahre 1981 einen Fall und Esh et al. 1982 vier Fälle von Tollwuterkrankung bei der Katze, die durch eine Tollwutimpfung mit einem Lebendimpfstoff verursacht worden waren. Zwei dieser Katzen waren FeLV-positiv, eine andere zeigte starke Lymphopenie. Bellinger et al. beschrieben 1983 einen durch Flury HEP-Impfstoff verursachten Tollwutfall bei einer vermutlich FeLV positiven Katze. Die Beweisführung dieser Arbeit wurde jedoch von Sharpee und Beckenhauer (1983) in Frage gestellt. Whetstone und Mitarbeiter (1984) beschrieben weitere 2 Fälle die durch einen Flury-HEP-Lebendimpfstoff verursacht wurden. Der Anteil an FeLV-positiven Katzen, welche als Folge einer Impfung an Tollwut erkrankten war 3/5, d.h. höher als die zu erwartende Frequenz von FeLV-positiven in einer Gesamtpopulation von randomisierten Katzen (<5%). Wahrscheinlich traten diese Fälle vor allem bei Tieren mit Immunschwäche auf [Bellinger et al., 1983; Whetstone et al., 1984]. Ob bei diesen Katzen eventuell eine Infektion mit dem immunsuppressiven Lentivirus der Katze (FIV) vorlag, lässt sich nicht beantworten, da dieses Virus erst 1987 von Pedersen und Mitarbeitern entdeckt wurde.



### 3 Eigene Untersuchungen

#### 3. 1 Material und Methoden

##### 3. 1. 1 Versuchsanordnung

Die hier beschriebene Arbeit wurde in 3 Phasen eingeteilt: Erster Vorversuch, zweiter Vorversuch und Hauptversuch.

##### 3. 1. 1. 1 Erster Vorversuch

In diesem Experiment sollte abgeklärt werden, ob das Virus auf dem Transport von Frankreich nach Basel an Virulenz verloren hatte, und ob die von Artols et al. 1984 beschriebenen Symptome reproduziert werden konnten. Ferner sollte in diesem Vorversuch die Inokulationsdosis überprüft werden.

Um diese Fragen zu beantworten, infizierten wir 3 gesunde Katzen im Alter von 20 Wochen mit je 2x0.5 ml der 1 zu 3 verdünnten Virussuspension. Aus Sicherheitsgründen wurden die Tiere mit einer Ketaminhydrochlorid-Xylazin Kombination sediert. Als Injektionsstelle für die Virussuspension wurde die Nackenmuskulatur gewählt. Gleichzeitig wurde der Titer des Inokulums bestimmt (s. Kap. 3.1.8.4). Wir gingen von der Annahme aus, dass 2 von 3 infizierten Katzen an Tollwut erkranken sollten.

##### 3. 1. 1. 2 Zweiter Vorversuch

Dieses Experiment verfolgte 2 Ziele:

1. Das eine Ziel bestand in der Abklärung, ob FeLV-virämische Katzen mit dem Tollwutvirus superinfiziert werden können.

2. Das zweite Ziel bestand darin, die Methodik der Virusinokulation, die Probenentnahmetechnik, Lagerung und Transport der Proben, sowie die Durchführung von verschiedenen Untersuchungsverfahren zu üben. Zu diesem Zweck wurden 5 Katzen im Alter von 12 Wochen mit FeLV infiziert. Wir erwarteten, dass innerhalb von 5 Wochen 3 bis 4 Katzen mit FeLV persistierend-virämisch würden, wonach sie mit dem Tollwutvirus infiziert werden konnten.

##### 3. 1. 1. 3 Hauptversuch

Im Hauptversuch sollte die der vorliegenden Arbeit zugrundeliegende Frage abgeklärt werden: **Ist es möglich, Katzen, welche mit dem am verbreitetsten Subtyp-A des FeLV infiziert sind, gegen Tollwut zu impfen und erfolgreich zu schützen ?**

Zu diesem Zweck wurden 20 Katzen im Alter von 12 und 13 Wochen mit FeLV infiziert. Aufgrund vorheriger Ergebnisse erwarteten wir, dass mindestens 16 Katzen innerhalb von 3 bis 4 Wochen virämisch würden. Nach weiteren 3 Wochen wurden die Tiere in 2, bezüglich FeLV-Status, Gewicht und Geschlecht, vergleichbare Gruppen eingeteilt und am Tag 38 mit 2 verschiedenen Tollwutimpfstoffen (vgl. 3.1.7) geimpft. Gleichzeitig wurden 10 gleichaltrige in 2 vergleichbare Gruppen geteilte FeLV-freie Katzen mit den selben Impfstoffen geimpft; diese 10 Tiere dienten als Kontrolle für optimalen Tollwut-Impfschutz. Zur Überprüfung des Tollwutimpfschutzes wurden am Tag 72 des Experimentes die 30 gegen Tollwut geimpften Katzen und zusätzlich 5 weitere FeLV-freie und nicht tollwutgeimpfte Tiere mit virulentem Tollwutvirus (GS/7, s. 3.1.4) infiziert.

##### 3. 1. 2 Katzen

Insgesamt wurden 43 Katzen (27 weibliche und 16 männliche Tiere) aus der SPF-Zucht von Ciba-Geigy, Abteilung Pharma-Forschung in Stein (AG) verwendet. Die Tiere im ersten Vorversuch waren etwa 20

Wochen alt, während die des zweiten Vorexperiments und des Hauptexperiments 12 und 13 Wochen alt waren. Bis zur Testinfektion wurden die Katzen in Gruppen in verschiedenen Räumen der Universität Zürich bei 20-22° Celsius und 50% ( $\pm 5\%$ ) relativer Luftfeuchtigkeit gehalten. Für die Testinfektion wurden die Tiere ins Eidgenössische Vakzineinstitut in Basel gebracht, wo sie einzeln in Chromstahlkäfigen in einem Isolationsraum mit Unterdruckventilation gehalten wurden.

Nach dem Absetzen bis zum Alter von 12 Wochen erhielten die Katzen pelletiertes Alleinfutter (NAFAG). Während des Aufenthaltes in Zürich wurden den Tieren rationiert Büchsenfutter (Whiskas®, EFFEMS AG, Zug) sowie Trockenfutter (Brekies®, EFFEMS AG, Zug) ad libitum gereicht. Im Anschluss an die Testinfektion mit Tollwutvirus wurde wieder auf trockenes Alleinfutter umgestellt.

### **3. 1. 3 FeLV**

Beim verwendeten Virus handelte es sich um molekular kloniertes felines Leukämievirus des Subtyps A/Glasgow, welches uns freundlicherweise von Prof. Dr. O. Jarret, Universität Glasgow zur Verfügung gestellt wurde. Wir erhielten das Virus in 5 ml Glasampullen in Form eines bei -70°C versandten und gelagerten Zellkulturüberstandes. Die Suspension enthielt 2.5 Millionen FFU / ml.

### **3. 1. 4 Tollwutvirus**

In unserem Experiment benutzten wir den Wildstamm GS/7, den uns Dr. J. Blancou vom Centre national d'études sur la rage in Malzéville (F) zu Verfügung stellte. Das Virus wurde aus Rotfüchsen (*Vulpes vulpes*) gewonnen, die an natürlicher Tollwut erkrankt waren. Diese Füchse wurden in Nord-Ost Frankreich erlegt. Die Speicheldrüsen dieser Tiere wurden homogenisiert und mit Hanks Medium (mit Antibiotikazusatz) im Verhältnis 1 / 5 (Gewicht / Volumen) verdünnt. Durch intramuskuläre Inokulation in Mäuse wurden die Virulenz und der Virustiter der Suspension bestimmt. Suspensionen mit geringem Virustiter oder schwacher Virulenz wurden eliminiert. Eine weitere Homogenisierung erfolgte in einem Schmelzeisbad durch einen VIRTIS®-Homogenisator 1 Minute bei 45000 Umdrehungen pro Minute. Durch Zentrifugation bei wenigen tausend Umdrehungen wurden Zellbestandteile abgetrennt und der Überstand unter ständigem Rühren in Glasampullen abgefüllt. Die zugeschweissten Ampullen wurden danach in flüssigem Stickstoff gelagert. Der Transport erfolgte in Trockeneis und die Lagerung im Eidgen. Vakzineinstitut bei -70°C. Vor Beginn des Experimentes wurde die Suspension in Mäusen titriert (Kap. 3.1.8.4).

### **3. 1. 5 Inokulation des FeLV**

Zur experimentellen Infektion wurden pro Katze 1.25 Millionen FFU in einem Volumen von 1 ml verwendet. Die Ampullen wurden in einem Wasserbad bei 37°C aufgetaut; unmittelbar nach dem Verflüssigen der Suspension wurden sie auf Schmelzeis gebracht und mit Zellkulturmedium (RPMI 1640 ohne fetales Kalbserum) 1:1 verdünnt. Mittels Tuberkulinspritzen wurden jeder Katze ohne Sedation 0.3 ml der Suspension in jede Nasenöffnung und 0.4 ml in den Rachen eingeträufelt.

### **3. 1. 6 Inokulation des Tollwutvirus**

Die das Tollwutvirus enthaltenden Ampullen wurden bei Raumtemperatur unter Kippbewegungen und Erwärmung von Hand schonend aufgetaut, nach vollständigem Schmelzen des Inhaltes geöffnet und auf Eis gestellt. Sofort nach Auftauen wurde die Suspension mit PBS (pH 7.4) soweit verdünnt, dass die für die Inokulation der Katzen notwendige Virusmenge ( $10^{5.7}$  bzw.  $10^{6.2}$  MLDi.c.50) in einem Volumen von 1 ml enthalten war. Die benötigte Virusmenge wurde nach der vom Centre national d'étude sur la Rage in Malzéville gelieferten Gebrauchsanweisung und unter Berücksichtigung der Ergebnisse des ersten

Vorexperimenten festgelegt; die Berechnung der effektiv verabreichten Dosis wurde durch eine parallel geführte Mäusetitration bestimmt. Im Hauptversuch wurde bewusst eine etwas höhere Dosis inokuliert, als in den zwei Vorexperimenten. Die Katzen wurden mit einer Ketaminhydrochlorid-Xilazin (Narketan®-Rompun®) Kombination sediert; als Inokulationsstelle wählte man die **Zervikalmuskulatur**.

Das Inoculum wurde auf 2 Stellen verteilt und zwar je 0.5 ml links und rechts dorsal der Atlasflügel.

### **3. 1. 7 Impfstoffe**

Wir verwendeten 2 im Handel erhältliche Totimpfstoffe mit der gleichen im NIH-Test bestimmten Potenz von 8 I.E. (bestimmt durch Dr. L. Bruckner, Eidgen. Vakzineinstitut).

Beim ersten Impfstoff (RABDOMUN®, Firma Wellcome, Batch# 8610) handelte es sich um ein mit Acethyläthylenimin inaktiviertes Virus vom Flury LEP Stamm, das an BHK Zellen adaptiert worden war. Diese Vakzine enthielt 3 mg Aluminiumhydroxid als Adjuvans, 0.1 mg Thiomersal und maximal 10 I.E. Neomycinsulfat als Zusätze, sowie Spuren von Rinder Serum. Das Totalvolumen betrug 1 ml, und der Virustiter vor der Inaktivierung betrug  $10^{7.3}$  MLDic50.

Der zweite Impfstoff (RABISIN®, Firma Rhône-Mérieux, Batch# 70 H 901) bestand aus einem an NIL-2 Zellen adaptierten Virus fixe-Stamm (=Pitman-Moore Stamm), zu dem nach Inaktivierung maximal 2 mg Aluminiumhydroxid zugesetzt wurden. Das Totalvolumen betrug 1 ml. Beide Impfstoffe wurden subkutan auf der Rückenlinie auf Höhe der Schulterblätter appliziert.

### **3. 1. 8 Testmethoden**

#### **3. 1. 8. 1 ELISA zum Nachweis von FeLV p27**

Zum Nachweis der FeLV-Infektion wurde ein auf monoklonalen Antikörpern beruhender Doppelantikörper ELISA (Sandwich-Typ) verwendet [Lutz et al., 1983a,b,d]

#### **3. 1. 8. 2 Indirekter Immunfluoreszenztest zum Nachweis der FeLV-Infektion (FeLV-IFA).**

Der indirekte Immunfluoreszenztest wurde analog den Angaben von Hardy (1973) durchgeführt. Allerdings wurde nicht ein polyklonales Antiserum, sondern eine Mischung von monoklonalen Antikörpern mit Spezifität für gp70 der Subtypen A, B, C und für p27 verwendet. Diese Antikörper wurden ursprünglich von Lutz et al. entwickelt [Lutz et al., 1981, 1983b]. Die verwendeten 3 monoklonalen Antikörper waren in Aszitesflüssigkeiten von Mäusen enthalten. Um allfällige, in diesen Aszitesflüssigkeiten weitere von der Maus stammende Antikörper, welche zu unspezifischen Reaktionen führen könnten, zu entfernen, wurde das nachstehend beschriebene in vivo Absorptionsverfahren durchgeführt.

Eine etwa 2 kg schwere SPF-Katze wurde durch eine Kombination von Ketaminhydrochlorid und Acethylpromazin (NARKETAN®-SEDALIN®) für eine Dauer von 3 Stunden sediert. Zur Vermeidung einer allfälligen anaphylaktischen Reaktion wurden dem Tier nach Eintreten der Sedation 40 mg Hydrokortison i.v. verabreicht. Danach wurden der Katze je 1 ml Aszitesflüssigkeit i.v. gespritzt, welche die folgenden monoklonalen Antikörper enthielten: 25 V D5 (anti gp70), 46II D7 (anti gp70) und 24II G3 (anti p27). Nach 3 Stunden wurde die Katze durch Herzpunktion entblutet. Das in der Folge gewonnene Serum wurde während 20 Minuten bei 56°C erhitzt, um das Komplement zu inaktivieren. Aus dem Serum wurde durch Ammoniumsulfatpräzipitation (50%ige Sättigung) die Immunglobulinfraktion gereinigt. Ammoniumsulfat wurde durch erschöpfende Dialyse gegen PBS entfernt. Zur Durchführung des FeLV-Antigennachweises in neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten und Monozyten von infizierten Katzen wurden aus frischen EDTA-Blutproben Ausstriche hergestellt und nach zweitägiger Lufttrocknung bei -20°C in Azeton während

10 Minuten fixiert. Die danach getrockneten Blutausschläge wurden mit dem in der Katzen-IgG Fraktion befindlichen monoklonalen Antikörpern während 2 Stunden bei 37°C inkubiert. Nach dreimaligem Waschen in PBS erfolgte ein Inkubationsschritt mit einem durch Fluorescein Isothiocyanat markierten Kaninchen-anti-Mausimmunglobulin-Konjugat (Nordic Laboratories, Tilburg, Niederlande, 1:150 verdünnt). Die Inkubation mit diesem Konjugat wurde bei 37°C während 1 Stunde durchgeführt. Aus jedem Blutausschlag von den zu untersuchenden Katzenproben wurde ein Feld mit dem oben erwähnten Gemisch monoklonaler Antikörper und ein zweites Feld mit einem nicht gegen FeLV gerichteten monoklonalen Antikörper als negative Kontrolle gleichzeitig inkubiert. Die beiden Felder wurden anschliessend in einem Wild-Leitz Mikroskop mit Auflichtfluoreszenz untersucht. Der FeLV-IFA wurde bei ausgewählten Proben angewandt. In der Regel benutzten wir zur Bestimmung des FeLV-Status den ELISA. Beim IFA sind Fehlermöglichkeiten und Zeitaufwand verhältnismässig gross. Dies trifft vor allem bei Katzen zu, die eine Leukopenie durchmachen. Im Blutausschlag solcher Tiere sind Leukozyten schwierig zu finden. Die Aussage "FeLV-positiv" oder "FeLV virämisch" bezieht sich ausschliesslich auf das Ergebnis des ELISAs (s. 3. 1. 8. 1.).

### 3. 1. 8. 3 Virusneutralisationstest zur Bestimmung der Tollwutantikörpertiter:

#### Rapid Fluorescence Focus Inhibition Test

Dieser Test wurde von Smith et al., 1973 beschrieben und in der von Dr. A. Wandeler, Tollwutzentrale, am Institut für Veterinärvirologie der Universität Bern leicht modifizierten Form angewendet.

Die Durchführung dieses Tests beruhte auf Verwendung der folgenden Ausgangsmaterialien:

- DME- Medium mit 5% Kälberserum und 3% foetalem bovinem Serum.
- BHK-Zellsuspension  $3 \times 10^5$  Zellen /ml.
- Virussuspension: SAD-Virus, im Zellkulturüberstand aus einer mit SAD-Stamm infizierten BHK-Zellkultur mit einem Virustiter von  $10^6$  bis  $10^7$ .
- menschliches Referenzserum mit einem Tollwutantikörpertiter von 50 IU.
- Konjugat: Kaninchen anti SAD-RNP/FITC: Es handelt sich um eine in der Tollwutzentrale hergestellte Fluorescein-Isothiocyanat-konjugierte Ammoniumsulfat-Fraktion, von Serum aus mit SAD-RNP immunisierten Kaninchen.
- Tollwutbouillon nach Wandeler:  
 Zubereitung: zu 1.4 ml 1mol/l  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 16.8 ml. 0.5mol/l  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  und 8.7 g. NaCl wurde destilliertes Wasser bis zu einem Totalvolumen von 900 ml zugegeben, die Lösung wurde autoklaviert. Dazu wurden 20 ml Pferdeserum pipettiert, welches bei 56°C während 30 Minuten inaktiviert worden war. Danach wurden 100 ml Penicillin-Streptomycin Lösung (1Mio. Einheiten Penicillin- G, z. B. Na-Salz Pfizer® und 1 g. Streptomycinsulphat) zugegeben.
- PBS (pH 7.2-7.4), Azeton, Glycerin/PBS 9:1
- Costar®-Platten für Gewebekultur mit 24 Vertiefungen von 16 mm $\phi$  (Nr.3524), mit Gammastrahlen sterilisiert (Vertretung für die Schweiz: Tecnomara AG, Zürich).
- Deckgläser: Für Costar-Platten: 10.5x10.5 mm, Dicke 0.28-0.32 mm (Tewis AG, Bern). Die Deckgläser wurden in einer Äther/ Äthylalkohol 1:1 Lösung während mindestens 24 Stunden entfettet, danach getrocknet und 3 Stunden lang bei 180°C sterilisiert. Für Mikroskope 24 x 24 mm, oder 24x60 mm.
- Saubere gewöhnliche Objektträger.
- CO<sub>2</sub> -inkubator (37°C).

- UV-Lampe.
- 3 ml Borosilikatröhrchen.
- Wasserbad (56°C).

### **Durchführung des Tests:**

#### **A: Ansetzen der Proben.**

Das Ansetzen der Proben wurde im Laminar-flow Arbeitsbank durchgeführt. Das Referenzserum wurde jedesmal mitgeführt, um die Umrechnung in internationale Einheiten durchführen zu können. Da die Untersuchung der Präimmunseren keine unspezifische Virushemmung ergab, erübrigte sich eine Kaolinzugabe zu deren Elimination. Jede Serumprobe wurde 1:5 verdünnt (0.2 ml Serum und 0.8 ml Medium). Vor der weiteren Verdünnung wurden alle Proben während 30 Minuten bei 56°C inkubiert, um das Komplement zu inaktivieren. Danach wurden unter Verwendung von Zellkulturmedium weitere 3 geometrische Verdünnungsstufen (1 zu 25, 1 zu 125, 1 zu 625) hergestellt, sodass alle Verdünnungsstufen ein Volumen von 0.8 ml aufwiesen. Zu jedem Röhrchen wurden 0.8 ml der 1:100 verdünnten Virussuspension zugegeben. Zudem wurde eine Reihe von verschiedenen Verdünnungen der Virussuspension vorbereitet (1:100, 1:1000, 1:10000, 1:100000). Der Inhalt der Röhrchen wurde gut gemischt, und danach wurden diese während 90 Minuten bei 37°C in den CO<sub>2</sub> Inkubator gestellt. In der Zwischenzeit wurden die Deckgläser mit einer sterilen Pinzette in die Costar-Platten gelegt. Nun wurden 0.4 ml des Serum-Virus Gemisches in jede Vertiefung der Costar®-Platten pipettiert, wobei pro Verdünnungsstufe 2 Vertiefungen beschichtet wurden. Danach wurden zu jeder Vertiefung 0.4 ml der Zellsuspension gegeben. Durch horizontale Bewegungen der Platten wurden die Proben gemischt. Es durften keine rotatorischen Bewegungen durchgeführt werden, um Wirbelbildungen und ungleiche Sedimentation der Zellen zu vermeiden. Die Platten wurden danach 25 Stunden lang bei 37°C im CO<sub>2</sub> Inkubator bebrütet.

#### **B Fixation und Färbung.**

Nach der Inkubation wurde der Inhalt der Vertiefungen ausgeklippt, und die Vertiefungen wurden mit PBS gefüllt. Danach wurde das PBS durch Kippen entfernt und die Platten mit den Öffnungen nach unten auf Fließpapier abgetupft. Zur Virusinaktivierung wurden die Platten während 10 Minuten unter eine UV-Lampe gelegt. Durch Zugabe von 0.2 ml PBS und 0.8 ml Aceton wurden die Zellen während 10 Minuten bei Raumtemperatur fixiert. Da bis zu diesem Schritt infektionfähiges Virus in den Dellen vorhanden war, wurden diese Arbeiten mit Handschuhen durchgeführt. Danach wurde die Fixationslösung abgegossen und die Platten im Luftstrom eines Ventilators gut getrocknet. Pro Vertiefung wurden nun 2-3 Tropfen des Kaninchen-anti-SAD/RNP Konjugates, in geeigneter Verdünnung in Tollwutbouillon zugegeben, und während 50 Minuten bei 37°C inkubiert (Feuchtkammer oder CO<sub>2</sub> Inkubator). Danach wurden alle Vertiefungen mit PBS einmal gewaschen und wieder gefüllt. Die Deckgläser wurden am Schluss aus den Dellen entfernt, mit den fixierten Zellen nach unten auf mit 2 Tropfen PBS/Glycerin beschichtete Objektträger gelegt und mit Deckgläsern abgedeckt.

#### **C: Beurteilung.**

Von jedem Deckglas wurden 20 Gesichtsfelder mit dem 10er Objektiv eines Fluoreszenzmikroskopes betrachtet und die Anzahl der fluoreszierenden Felder registriert. Die Titer wurden nach der Spearman-Kärber Methode berechnet [Lorenz und Bögel 1973].

### **3. 1. 8. 4 Titration des für die Testinfektion verwendeten Tollwutvirus**

Um die zur Infektion der Katzen verwendete Virusmenge zu bestimmen, wurde die Virussuspension im ersten Vorversuch gleichzeitig in Mäusen titriert. Dazu wurden 10 Mäuse pro Verdünnungsstufe intrazerebral mit je 0.03 ml der Suspension injiziert [Koprowski, 1973].

### **3. 1. 8. 5 Tollwutvirusnachweis mittels direktem Immunfluoreszenztest.**

Die Tollwutdiagnose wurde postmortal mittels des direkten Immunfluoreszenztests gestellt. Dieser Test wurde von Dean und Abelseth (1974) beschrieben. In der schweizerischen Tollwutzentrale wurde dieser Test ohne wesentliche Änderung durchgeführt. Als Konjugat wurde ein FITC-markiertes Kaninchenimmunglobulin, mit Spezifität für das Tollwutvirusribonukleoprotein, verwendet.

### **3. 1. 8. 6 Tollwutvirusnachweis im Speichel von Katzen.**

Dieser Test wurde am Ende des Hauptexperimentes durchgeführt, um ausschliessen zu können, dass die Katzen im Speichel Tollwutvirus ausschieden.

Zum Tollwutvirusnachweis wurden den Katzen mittels handelsüblichen Wattestäbchen Speichelproben entnommen. Diese wurden vor der Entnahme in Tollwutbouillon nach Wandeler (s. Kap. 3.1.8.3) eingetaucht, um unspezifische Bindungsstellen zu blockieren. Nach Eintauchen in die Tollwutbouillon wurden die Stäbchen (Watte gegen oben) während 10 Minuten bei 1000 g zentrifugiert, womit sie von der Flüssigkeit vollständig befreit wurden. Zur Probenentnahme selbst wurden die Wattestäbchen links und rechts in die Backentaschen sowie unter der Zunge des zu untersuchenden Tieres eingeführt, womit die Watte sich mit Speichel vollsaugen konnte. Nach der Entnahme wurden die Stäbchen mit einer Schere derart gekürzt, dass die Watte mit dem verbleibenden Stäbchenteil in ein 1.5 ml Eppendorfröhrchen gestellt werden konnte. Die Röhrchen wurden 5 Minuten bei 1000 g zentrifugiert, wodurch sich der in der Watte aufgefangene Speichel herauszentrifugieren liess. Die dadurch gewonnene Speichelmenge betrug 50-200 µl. Die Proben wurden zu gleichen Teilen mit Tollwutbouillon verdünnt und mindestens während einer Stunde bei 4°C gelagert. Von jeder Probe wurden jeweils 0.03 ml intrazerebral in 2 mit Äther betäubte etwa 12 Gramm schwere Mäuse inokuliert. Dazu wurde eine Einstichstelle gewählt, die sich in der Mitte einer Verbindungslinie zwischen Auge und Ohr befand. Die Kanüle wurde nach rostral gerichtet.

Wäre es innerhalb von 3 Wochen nach der Inokulation zu Todesfälle gekommen, so hätten sich diese durch Tollwutvirus- oder bakterielle Infektion erklären lassen. Das Vorliegen einer Tollwutvirusinfektion hätte sich wiederum mittels direktem Immunfluoreszenztest nachweisen lassen (s. Kap. 3.1.8.5).

### **3. 1. 8. 7 Überwachung des Gesundheitszustandes**

Anlässlich der Blutentnahmen wurden die Katzen klinisch untersucht und Körpergewicht, sowie Rektaltemperatur bestimmt. Von jeder Blutprobe wurden Hämatokrit, Erythrozytenzahl und -indizes, Hämoglobin, sowie Gesamtleukozytenzahl ermittelt. Zur Blutuntersuchung stand das elektronische Zellzählgerät "Autolyzer 80" (Contraves AG) zu Verfügung. Blutausstriche wurden nach May-Grünwald-Giemsa gefärbt und anhand mikroskopischer Beurteilung von 200 Zellen wurde ein Differentialblutbild erstellt.

### **3. 1. 8. 8 Statistische Methoden**

Zum Vergleich der Titerhöhen wurden den Mann-Whitney-Rangsummentest und den Wilcoxon-Test verwendet.

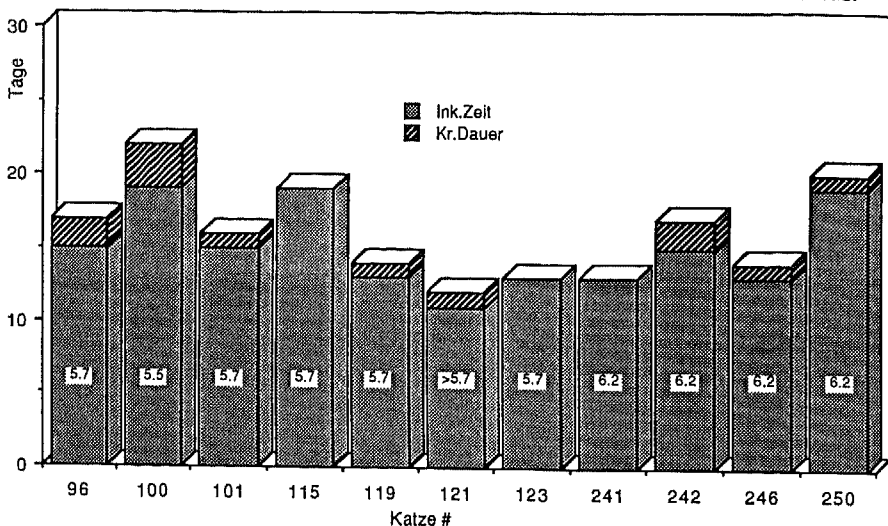
## 4 Resultate

### 4.1 Allgemeine Angaben über den Krankheitsverlauf der an Tollwut erkrankten Katzen in den 3 Experimenten

In Abbildung 4.1 sind Inkubationszeit und Krankheitsdauer bei insgesamt 11 Katzen wiedergegeben, welche in einem der 3 Experimente an Tollwut erkrankten und starben bzw. euthanasiert wurden. Die Katzen 115, 119, 121 und 123 waren 6 Wochen vor Inokulation des Tollwutvirus mit FeLV infiziert worden; die 3 erstgenannten Katzen waren zur Zeit der Inokulation des Tollwutvirus FeLV-virämisch; anlässlich der Euthanasie war jedoch nur noch die Katze 119 positiv.

Abbildung 4.1

Inkubationszeit und Krankheitsdauer bei 11 Katzen nach Inokulation des Tollwutvirus.



Die im Balkendiagramm angegebenen Zahlen entsprechen der Inokulationsdosis in log MLD<sub>50</sub>.

Von insgesamt 13 tollwutinfizierten, ungeimpften Katzen erkrankten 11 an Tollwut und starben bzw. wurden euthanasiert; die Diagnose der Tollwut wurde mittels Antigennachweis im Immunfluoreszenz-Test in der Tollwutzentrale bei den 11 erkrankten Katzen bestätigt. Die Krankheitsdauer schwankte zwischen 0 Tagen (Katzen Nr. 115, 123 und 241) und 3 Tagen (Katze Nr. 100), wobei die Tiere aus tierschützerischen Überlegungen euthanasiert wurden, sobald die Diagnose aufgrund der klinischen Symptome (Aufreten von deutlichen ZNS-Störungen) gesichert war.

#### Beobachtete Symptome:

Bei den erkrankten Katzen wurden nach Massgabe der Häufigkeit die folgenden Symptome beobachtet:

- 1-Verlust der Scheue (Kontaktsuche), Unruhe, ständiges "Miauen".
- 2-Anorexie.
- 3-Wasserverweigerung.

4-Kopfanlehnen und reiben des Körpers gegen die Käfigwände.

5-Gesträubte Haare, vor allem auf der Rückenlinie.

6-Sog."Melken" d.h. das alternierende Beugen und Strecken der Vorderextremitäten, welches bei saugenden Jungkatzen beobachtet werden kann.

7-Beissen auf einen vorgelegten Eisenstab.

8-Neurologische Ausfallserscheinungen wie Kopftremor, Anisokorie, Gleichgewichtsstörungen, häufiges Schlucken, Ptialismus, Verlust der Propriozeption (besonders auffallend beim Putzverhalten einer einzelnen Katze. Dieses Tier blieb mit den Krallen mehrmals im Maul hängen), progressive Paralyse.

9-Agonal traten tonisch-klonische Krämpfe und Konvulsionen auf, die Tiere blieben in Seitenlage.

Die unter Punkt 1, 4 und 6 beobachteten Verhaltensänderungen konnten allerdings auch bei gesunden Katzen beobachtet werden und dürften durch die Einzelhaltung in Käfigen bedingt gewesen sein; allerdings waren diese Verhaltensmuster bei gesunden Tieren weniger ausgeprägt. Der als klassisch beschriebene Verlauf, bei welchem die drei Phasen Prodromalstadium, aggressives Stadium und paralytisches Stadium unterschieden werden können, war bei unseren Katzen nur in Ansätzen erkennbar. In einem Fall folgte der Anorexie die Lähmung sofort.

#### 4.2 Erster Vorversuch

**Tabelle 4.1 Wichtigste aus dem ersten Vorexperiment gewonnenen Daten**

Katze #	96	100	101
Inoculumvolumen (ml)	2x0.5	2x0.3	2x0.5
Virusmenge (MLD <sub>50</sub> )	10 <sup>5.7</sup>	10 <sup>5.5</sup>	10 <sup>5.7</sup>
Inkubationszeit (Tage)	15	19	15
Krankheitsdauer (Tage)	2	3	1
Tollwutantikörpertiter (RFFIT)			
vor Infektion	<0.05 IU	<0.05 IU	<0.05 IU
nach Infektion	1.36 IU	n.d.	<0.05

Diese Resultate zeigen, dass weder der Titer der Virussuspension noch die Virulenz des Virus durch den Transport beeinträchtigt worden waren. Die von Dr. Blancou gelieferten Angaben konnten damit vollumfänglich reproduziert werden. Zugleich waren unsere Bedingungen zur Verwendung dieses Virus in den darauffolgenden 2 Experimenten erfüllt.

#### 4.3 Zweiter Vorversuch

Die aus dem zweiten Vorexperiment gewonnenen wichtigsten Ergebnisse sind in Tabelle 4.2 zusammengefasst.

Drei Wochen nach der FeLV Inokulation waren 3 Katzen positiv im FeLV-ELISA, in der vierten Woche war eine weitere Katze fraglich positiv, sodass wir in der 6. Woche unsere Tiere mit Tollwutvirus infizieren konnten.



Tabelle 4.2 Wichtigste aus dem zweiten Vorexperiment gewonnene Daten

Katze#	115	119	121	123	127
Erstmaliges Nachweis von FeLV (Tage)	21	28	21	-	21
Leukozytenzahl bei Inokulation des Tollwutvirus (pro $\mu\text{l}$ )	9500	10400	3000	8300	6600
tiefste beobachtete Leukozytenzahl / $\mu\text{l}$ (=MIN)	9500	6500	3000	1200	6600
Zeitpunkt des Auftreten des MIN (Tage post FeLV-Inokulation)	42	28	42	56	42
Tollwutantikörpertiter: ( RFFIT*) vor Tollwutvirus-Inokulation bei Euthanasie	0 0.2	0 0.1	0 0	0 0.4	0.02 (0.2/0.1/0)*
Inkubationszeit : Tage	19	13	11	13	-
Krankheitsdauer (Tage)	0	1	1	0	-
FeLV-Status bei der Tollwutvirus-Inokulation	+	+/-	+	-	-
FeLV-Status bei der Euthanasie	-	+	-	-	-

(\* RFFIT = Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test / \*: keine Erkrankung, die Titer wurden 32 bzw 76 und 90 Tage nach Inokulation des Tollwutvirus bestimmt).

Aus der Tabelle 4.2 ist zu entnehmen, dass bei 4 von 5 infizierten Katzen die FeLV Infektion anging. Zum Zeitpunkt der Inokulation des Tollwutvirus waren 3 Tiere FeLV-positiv; bei der Euthanasie d.h 11-19 Tage danach wies nur noch eine Katze FeLV-Antigen im Blut auf.

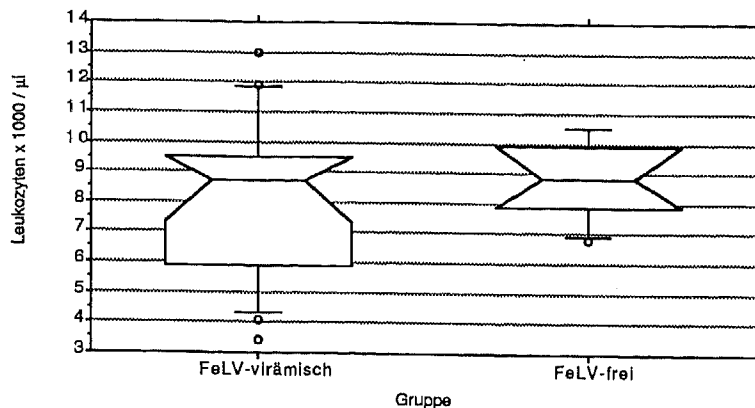
Aus der Beobachtung, wonach 4 von 5 FeLV-infizierten Katzen an Tollwut erkrankten, wurde geschlossen, dass durch eine vorbestehende FeLV-Infektion der Verlauf der Infektion mit dem Tollwutvirus nicht erkennbar beeinflusst wird.

#### 4. 4 Hauptexperiment

Alle 30 geimpften Katzen überlebten die Belastungsinfektion; von den 5 ungeimpften Tieren erkrankten 4 an Tollwut und wurden euthanasiert; die Diagnose wurde mittels Gehirnimmunfluoreszenz bestätigt.

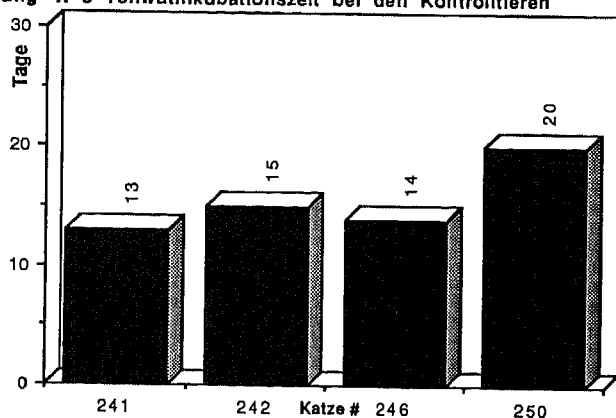
**Gesamtleukozytenzahl:** Am Tag der Testinfektion (Versuchstag 73 ) waren alle Katzen klinisch gesund. Zwischen den Gesamtleukozytenzahlen der FeLV-freien und der FeLV-virämischen Katzen war kein Unterschied festzustellen (Abb 4.2). Auffallend sind jedoch die grössere Streuung der Leukozytenzahlen in der FeLV-virämischen Gruppe, und die tiefen Werte von 3 virämischen Katzen (3400, 4100 und 5300 Leukozyten/  $\mu$ l).

Abbildung 4. 2 Gesamtleukozytenzahlen am Tag der Testinfektion



**Inkubationszeit:** Die bei den Kontrolltieren beobachtete Inkubationszeit (Abbildung 4.3) entsprach jener des ersten und zweiten Vorexperimentes.

Abbildung 4. 3 Tollwutinkubationszeit bei den Kontrolltieren



Antikörpertiter der ungeimpften Kontrolltiere: Die 5 ungeimpften Kontrolltiere wiesen bei der Testinfektion keine messbaren Tollwutvirus-neutralisierende Antikörpertiter auf. Bei der Euthanasie der 4 erkrankten Katzen, die aus tierschützerischen Gründen bereits in der initialen Phase der Krankheit erfolgte, zeigten 3 Katzen keinen relevanten Titeranstieg ( $\leq 0.1$ ,  $\leq 0.1$ ,  $0.17 \text{ IU}$ ). Die vierte Katze wies zur Zeit der Euthanasie einen Titer von  $0.57 \text{ IU}$  auf.

Bei der nicht erkrankten Katze wurde der Antikörpertiter im Plasma 48 und 54 Tage nach Testinfektion bestimmt. In beiden Fällen war keine Serokonversion festzustellen ( $\leq 0.1$  bzw.  $0.14 \text{ IU}$ ). Diese Katze war am Tag der Euthanasie (3 Monate nach Testinfektion) in der Gehirnimmunfluoreszenz negativ.

Tollwutantikörpertiter der geimpften Tiere: Die zwischen Tag 38 und 183 des Experimentes bestimmten Tollwutantikörpertiter sind in Tabelle 4.3 angegeben und in Abbildung 4.4 graphisch dargestellt.

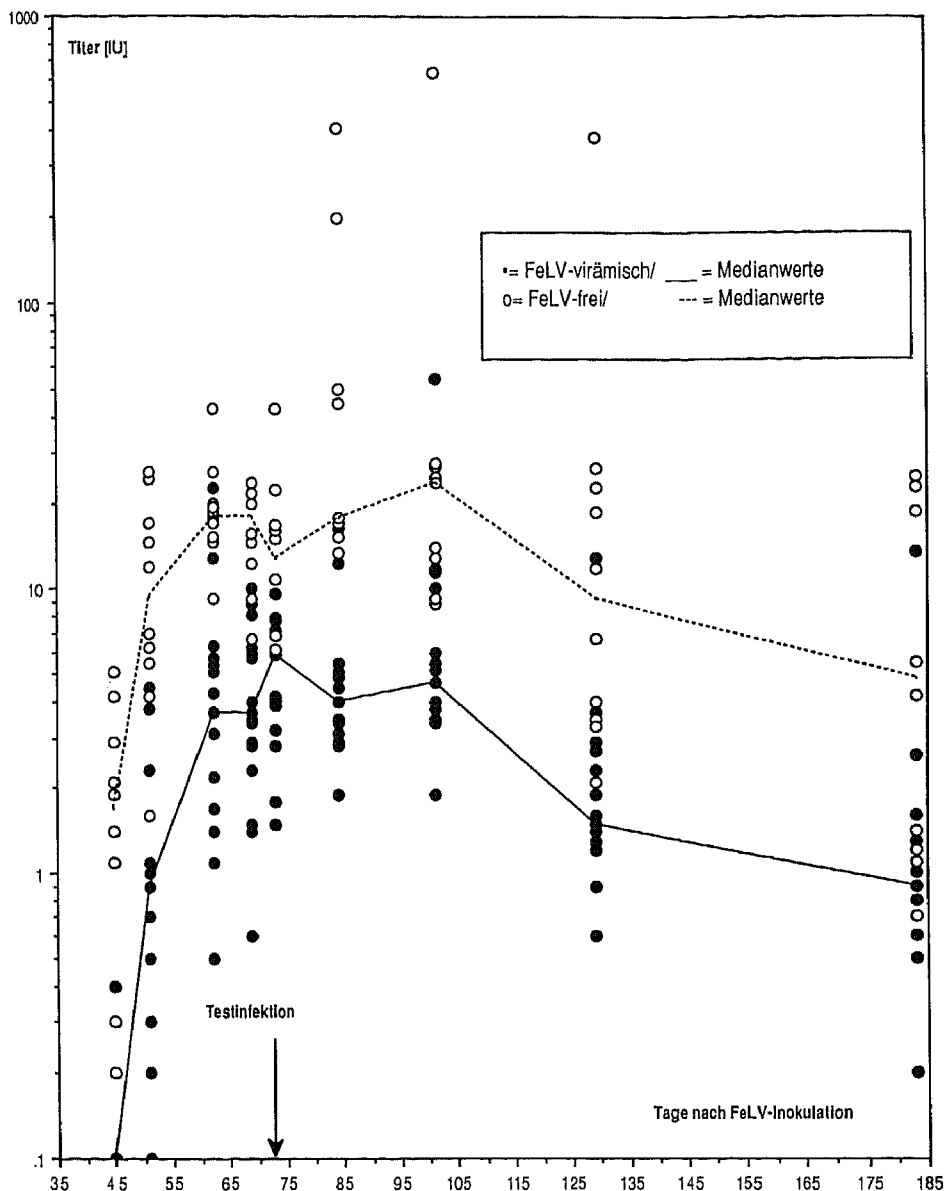
Bei der Analyse der Titerverlaufskurven wurde folgendes festgestellt:

- FeLV-negative und FeLV-positive Tiere reagierten nach Impfung mit der Bildung eines Titers.
- Die Antikörpertiter der FeLV-negativen Tiere waren nach Tag 38 bei jeder Messung signifikant höher als die der FeLV-positiven Tiere ( $p < 0.01$  entsprechend einem [Z-Wert] von über 2.576 im "Mann-Whitney U-Rangsummen-Test").
- Bei den FeLV-negativen Tieren konnte im Anschluss an die Testinfektion ein signifikanter Anstieg des Tollwutantikörpertiters festgestellt werden (Wilcoxon-Test,  $p < 0.01$  bzw.  $|Z| > 2.576 = 2.8$ ). Bei den FeLV-positiven Tieren wurde im Anschluss an die Testinfektion kein signifikanter Titeranstieg beobachtet ( $Z = 0.024$ ) (Abb.3.4 und 3.5).

**Tabelle 4. 3 Titer neutralisierender Antikörper (in IU) bei FeLV positiven und FeLV-negativen gegen Tollwut geimpften Katzen (Hauptexperiment)**

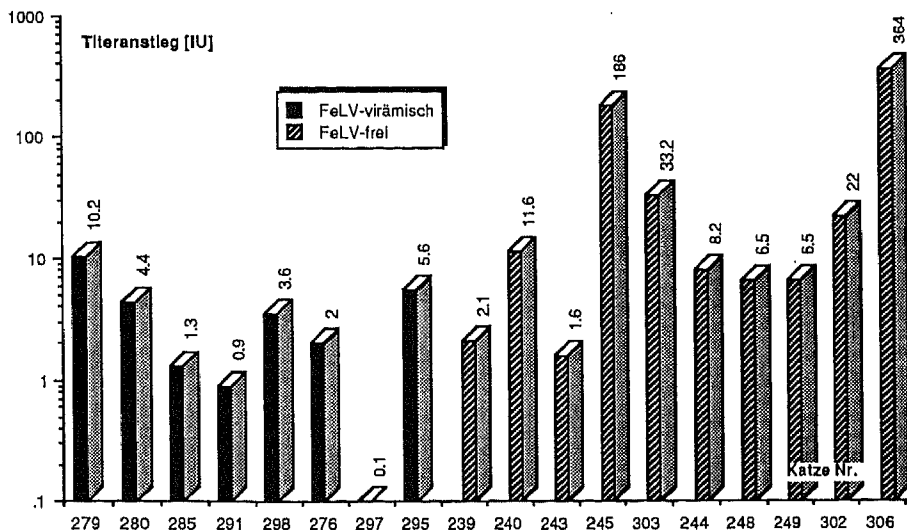
K#	Gr.	Tage nach FeLV Inokulation									
		38	45	51	62	69	73	84	101	129	183
239	0	0	1.1	5.5	17.7	20.0	14.9	17.0	12.8	4.0	0.7
240	0	0	1.4	6.2	9.3	14.5	6.1	17.7	23.5	11.8	4.1
243	0	0	2.9	7.0	25.5	21.7	16.1	17.7	26.5	26.5	18.5
244	0	0	1.9	24.2	20.0	9.31	6.9	15.1	8.9	2.1	1.2
245	0	0	1.4	11.9	18.5	15.7	10.8	196.8	24.5	3.5	1.4
248	0	0	0.3	4.2	14.5	12.3	6.9	13.4	9.3	6.7	5.5
249	0	0	0.2	1.6	15.1	6.7	6.9	13.4	23.5	18.5	22.6
275	F	0	0.1	1.1	3.1	2.9	4.1	2.9	3.4	1.4	1.6
276	F	0	0.1	0.7	1.0	1.4	1.5	3.5	1.8	1.2	0.6
279	F	0	0.2	0.1	2.2	2.3	3.2	13.4	5.5	1.6	0.6
280	F	0	0.1	3.8	5.7	6.7	7.9	12.3	11.8	3.7	1.4
281	F	0	0.4	4.5	12.8	8.2	9.6	3.5	54.2	12.8	13.4
282	F	0	0.1	1.1	5.1	6.2	7.8	4.9	10.1	2.8	1.3
283	F	0	0.1	1.0	4.3	4.0	6.9	4.0	4.0	1.9	0.8
285	F	0	0.1	0.5	1.4	1.5	1.8	3.1	3.4	1.3	1.0
288	F	0	0.2	2.3	6.3	5.7	5.9	4.5	4.69	2.3	2.6
289	F	0	0.1	0.5	5.4	6.0	7.2	5.5	3.8	1.5	0.9
291	F	0	0.2	0.3	1.4	3.7	4.2	5.1	6.0	4.0	1.4
292	F	0	0.2	3.8	3.7	3.4	5.9	2.8	1.8	0.6	0.2
295	F	0	0.1	1.6	22.5	8.9	10.8	16.4	11.4	1.5	0.8
296	F	0	0.1	0.5	1.7	3.5	2.8	1.9	3.4	0.9	0.5
297	F	0	0.1	0.9	2.2	2.8	3.9	4.0	8.9	2.7	1.2
298	F	0	0.1	0.2	0.5	0.6	1.5	5.1	5.2	0.6	0.4
301	F	0	0.1	0.7	3.7	10.0	6.9	3.4	3.5	1.2	0.5
302	0	0	2.1	17	19.2	21.7	22.3	44.3	13.9	3.3	1.1
303	0	0	4.2	14.5	17.0	20.0	16.8	50	27.6	22.6	22.6
306	0	0	5.1	25.5	42.5	23.5	42.5	406.4	633.0	374.9	24.5
Z-Wert **		0	4.1	4.0	3.8	4.0	3.0	4.0	3.5	3.5	2.7
284*	Ø	0	2.0	4.7	18.5	8.6	6.3	15.1	17.0	18.5	7.6
290*	Ø	0	0.1	1.9	2.3	2.5	2.9	1.2	1.2	0.3	0.2
299*	Ø	0	0.5	18.5	20.8	19.9	17.7	15.7	14.5	3.1	2.6

\*\* Mann-Whitney U-Test. / \* In der Statistik nicht berücksichtigt, s.u. "Spezialfälle. / F = FeLV-virämisch; 0 = FeLV-frei; Gr. = Gruppe; K# = Katze Nr.

Abbildung 4.4 Tollwutantikörpertiter<sup>1</sup> im Hauptversuch

<sup>1</sup>Die Titer sind logarithmisch dargestellt, damit sämtliche Werte in einer einzigen Abbildung gezeigt werden können.

Abbildung 4.5 Titerzunahme bei jenen geimpften Katzen die anschliessend an die Testinfektion einen "Booster- Effekt" zeigten



Eine Titerzunahme war bei 8 von 17 FeLV virämischen Katzen und bei allen 10 FeLV-freien Katzen zu registrieren. In Abb. 4.5 ist zu erkennen, dass die Titerzunahmen bei den 8 Katzen der Gruppe F (FeLV-virämisch) geringer sind als bei den 10 Katzen der Gruppe 0 (beachte die logarhythmische Darstellung).

#### Spezialfälle:

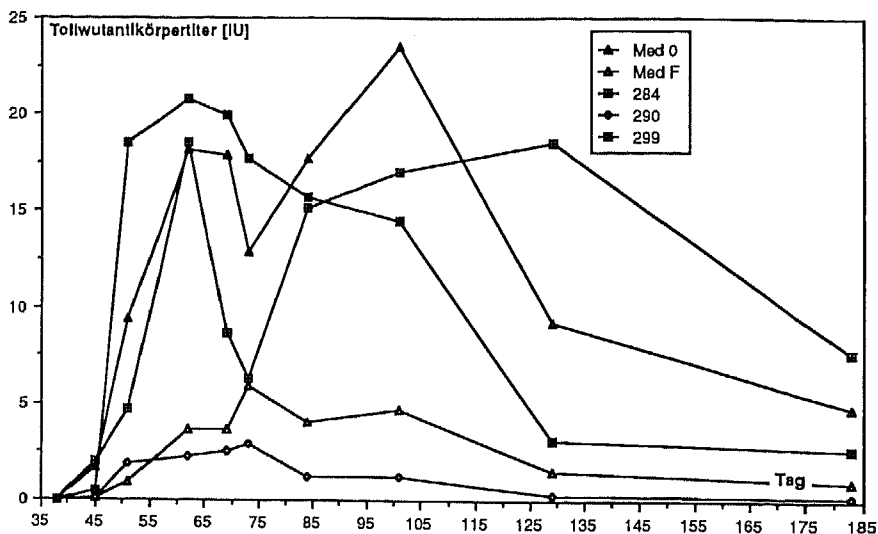
Drei Katzen wurden in der Statistik nicht berücksichtigt, weil sie trotz Inokulation des FeLV zur Zeit der Tollwutimpfung nicht virämisch waren. Ihre Titerverlaufskurven sind in Abbildung 4.6 dargestellt.

Die Katze 299 wurde nie FeLV positiv. Die Titer dieses Tieres waren höher als der Medianwert der 17 virämischen Katzen. Bis nach der Testinfektion waren die Titer auch höher als der Medianwert der Kontrolltiere. Im Anschluss an die Testinfektion war bei dieser Katze kein Booster Effekt festzustellen, während dies bei allen 10 FeLV-freien Tieren der Fall war.

Die Katze 290 zeigte einen Antikörpertiterverlauf, der praktisch dem einer virämischen Katze entspricht. Die Titer waren in jedem Fall kleiner, als der Medianwert der FeLV-virämischen Katzen. Am Tag 183 war diese Katze zum ersten Mal positiv im FeLV-ELISA; es handelte sich hier sehr wahrscheinlich um einen latenten FeLV-Träger.

Die Katze 284 zeigte Titerwerte, die immer grösser waren als die Medianwerte der Gruppe F und abgesehen von den Werten der Tage 51, 69 und 73 näher bei den Medianwerten der Gruppe 0 lagen. Hier wie bei den 10 FeLV-freien Tieren liess sich im Anschluss an die Inokulation des Tollwutvirus eine Booster Reaktion nachweisen.

Abbildung 4.6 Verlauf der Tollwutantikörpertiter bei 3 Katzen, die in der Statistik nicht berücksichtigt wurden



## 5 Diskussion

Der Schutzimpfung unserer Haustiere kommt bei der Bekämpfung der Zoonose Tollwut entscheidende Bedeutung zu. Damit Mensch und Tier wirkungsvoll geschützt sind, ist es wichtig, dass der Impfschutz bei möglichst vielen Tieren für längere Zeit und auf eine zuverlässige Art erreicht wird. Feld-Beobachtungen und verschiedene experimentelle Untersuchungen haben gezeigt, dass bei Katzen Impfversager vorkommen. So wurden zwischen 1967 und 1978 bei 111 im Kanton Waadt bei Katzen diagnostizierten Tollwutfällen 18 Tiere gefunden, die gegen Tollwut geimpft gewesen waren. Dieser Beobachtung können verschiedene Ursachen zugrunde liegen: 1. Vor einer Impfung sollte normalerweise eine Allgemeinuntersuchung durchgeführt werden. Aus verschiedenen Gründen dürfte die Bedeutung dieser Massnahme in der Praxis unterschätzt werden. Krankheiten wie FIP, FeLV-bedingte Erkrankungen, und Katzenschnupfen sind anlässlich einer klinischen Untersuchung nicht immer klar erkennbar (je nach Phase und Verlauf). In der Folge dürften gelegentlich kranke Katzen geimpft werden, bei denen sich dann kein genügender Impfschutz ausbilden kann. 2. Zwischen 1967 und 1978 wurde für die Vakzination von Katzen vor allem Lebendvakzinen (ERA-Impfstoffe) verwendet. Im Rahmen experimenteller Untersuchungen und epidemiologischer Beobachtungen, die am Eidgenössischen Vakzineinstitut gemacht worden waren, erwies sich die Immunantwort nach Vakzination mit diesem Impfstoff als nicht immer ausreichend, um Katzen zu schützen [Kihm et al., 1982]. Es ist auch bekannt, dass die Verwendung von ERA-Impfstoff bei der Katze in Einzelfällen zu Tollwut führte. Da einige der nach ERA-Impfung an Tollwut erkrankten Tiere FeLV-positiv waren, muss man vermuten, dass die durch FeLV-bedingte Immunsuppression die Tiere für die Impfvirus-bedingte Tollwut empfänglich machte [Eriewein, 1981; Esh et al., 1982]. 3. Durch unsachgemässe Lagerung von Impfstoffen, kann es zum Verlust der Wirksamkeit kommen. 4. Eine weitere Erklärung für einen mangelnden Impfschutz ergibt sich aus der Durchführung der Impfung an sich. Bei der Impfung von widerspenstigen oder wilden Katzen kann ein Teil des Inokulums verloren gehen. 5. Andere mögliche Ursachen sind administrativer Natur, wie Verwechslung von Tieren oder Impfzeugnissen, falsche Angaben beim Ausfüllen von Untersuchungsanträgen zum Tollwutnachweis usw. Eine falsch positive Tollwutdiagnose ist in diesen Fällen sehr unwahrscheinlich, weil Gehirnimmunfluoreszenztest und Mäuseinokulationstest sehr zuverlässig sind.

Von den oben erwähnten Erklärungen des Impfversagens erschien uns jene einer vorbestehenden FeLV Infektion von besonderer Bedeutung zu sein, da einerseits die FeLV-Infektion während Monaten und Jahren klinisch unauffällig bleiben kann und andererseits in der Welschschweiz, wo Tollwut noch vorkommt, FeLV-Infektionen häufiger beobachtet werden, als in anderen Regionen der Schweiz. Unsere Arbeitshypothese beruhte auf der Annahme, dass das feline Leukämievirus eine Immunschwäche verursachen kann, welche das Erreichen eines guten Schutzgrades verhindert. Bei unserem Experiment war wichtig, dass die FeLV-virämischen Katzen klinisch nicht krank wurden. Bei kranken Katzen, die korrekterweise nicht geimpft würden, ist im Allgemeinen eine verminderte Antwort auf einen immunologischen Stimulus zu erwarten. Blancou und Mitarbeiter (1986) zeigten, dass gesunde Feldkatzen unbekannter Herkunft nach der Tollwutimpfung mit der Bildung niedrigerer Antikörpertiter reagierten, als SPF-Katzen und Hauskatzen (s. Literaturübersicht 2.3.4.). Deshalb verwendeten wir SPF-Katzen, die alle aus der gleichen Zucht stammten und einen FeLV-Stamm, der die Katzen in der Regel klinisch nicht krank macht. Bei unseren FeLV-virämischen Katzen hätte selbst ein aufmerksamer Tierarzt durch einen



Allgemeinuntersuchung oder mittels hämatologischer Untersuchungen nicht feststellen können, dass die Katzen mit FeLV infiziert waren. Wir imitierten mit unserem Experiment somit Verhältnisse, wie sie im Felde vorkommen können. Es stellte sich heraus, dass unsere Katzen tatsächlich signifikant niedrigere Titer neutralisierender Antikörper aufwiesen, als die FeLV-negativen Tieren. Interessanterweise wurden nicht nur bei den FeLV-positiven Tieren, sondern auch bei der Katze 290, jenem Tier bei dem der FeLV-Test erst am Schluss des Experimentes positiv ausfiel, stark erniedrigte Antikörpertiter gemessen. Zum Zeitpunkt der Testinfektion (35 Tage nach der Impfung) betrug der niedrigste Titer 1.5 I.U. (bei 2 FeLV-virämischen Katzen). Nach Bunn (1987) gelten Katzen mit solch tiefen Titer als geschützt. Bunn fand, dass rund 16% der Katzen mit Titern unter 5 IU. nach einer experimentellen Infektion an Tollwut erkrankten. Beim Vergleich der Titer ist allerdings daran zu erinnern, dass absolute, in verschiedenen Labors mit unterschiedlichen Verfahren (RFFIT und früher Serumneutralisationstest) bestimmte Titer nur bedingt vergleichbar sind.

Als minimale Schutzdauer wird bei der Tollwutimpfung vom Gesetz die Zeit von 1 Jahr gefordert (für den Grenzübergang darf die letzte Tollwutimpfung höchstens ein Jahr zurückliegen). Nach Angaben der WHO vermutet man, dass die im Handel erhältlichen Impfstoffe für den tierärztlichen Gebrauch, trotz hoher Schwankungsbreite der Potenzwerte, in der Lage sind, Tiere bis zu einer Dauer von 3 Jahren zu schützen. In unserem Experiment sanken die Titer bereits nach dem 140. Tag wieder ab. Diese Beobachtung könnte dadurch erklärt werden, dass unsere Katzen im Alter von 4 Monaten geimpft wurden. Unter Feldbedingungen werden Katzen erst mit 6 Monaten oder später geimpft. Der niedrigste Titer bei den Kontrolltieren betrug 145 Tage nach der Impfung 0.7 IU. Fünf der FeLV-virämischen Tiere, sowie die Katze 290 (zu dieser Zeit auch virämisch), zeigten noch niedrigere Titer. Es ist somit unklar, ob unsere FeLV-infizierte Tiere völlig geschützt gewesen wären, wenn die Testinfektion zu einem wesentlich späteren Zeitpunkt (z.B. 12 Monate nach Vakzination) durchgeführt worden wäre. Interessanterweise wurde bei den FeLV-freien Katzen durch die Inokulation des Tollwutvirus ein Boostereffekt beobachtet (Titerzunahme nach 10 Tagen bei 10 von 10 Katzen, signifikant im Wilcoxon Test mit  $p < 0.01$ ); dieser Effekt blieb bei den FeLV-virämischen Katzen aus (Titerzunahme bei nur 8 von 17 Katzen, nicht signifikant im Wilcoxon Test). Von dieser Beobachtung muss abgeleitet werden, dass bei FeLV-infizierten Katzen unter Praxisbedingungen auch durch kürzere Intervalle bei den Wiederholungsimpfungen eine Erhöhung des Schutzgrades kaum zu erzielen wäre.

Die vorliegenden Untersuchungen bestätigen und erweitern die Kenntnis der FeLV-bedingten Immunsuppression (s. Kap. 2.1.8.2.2). Wie die von Hardy (1982) durchgeführten Experimente mit Schaferythrozyten und die Untersuchungen von Trainin et al. (1983) zeigten, ist bei FeLV-infizierten Tieren, in Abhängigkeit von der Antigenmenge, eine deutliche Schwächung der humoralen Immunantwort zu beobachten. Pedersen (1984) konnte bei FeLV-positiven Katzen nach Immunisierung mit aus Salmonellen extrahierten Lipopolysacchariden eine im Vergleich zu Kontrolltieren deutlich verminderte humorale Immunantwort feststellen. Dagegen waren die Titer der gegen Corona-, Rhinotracheitis-, und Calicivirus gerichteten Antikörper bei FeLV-infizierten gegenüber gesunden Katzen nicht signifikant erniedrigt. Die vorliegenden Untersuchungen sind unseres Wissens die ersten, bei welchen die Immunisierung FeLV-infizierter Katzen mit einem in seiner biologischen Wirksamkeit quantifizierbaren (Potenzbestimmung mittels NIH-Test) Impfstoff untersucht wurde. Bezüglich Übertragung unserer Ergebnisse auf die Praxissituation erscheinen unsere Experimente beruhigend: Zwar konnte bei FeLV-infizierten Katzen nach Tollwutimpfung

eine im Vergleich zu den Kontrolltieren deutlich verminderte humorale Immunantwort beobachtet werden. Die Schwächung der Immunantwort war aber nicht genügend ausgeprägt, dass die Tiere gegenüber einer Testinfektion empfänglich geworden wären. In diesem Zusammenhang muss jedoch darauf hingewiesen werden, dass die in unseren Experiment verwendeten, aus einer normalen, im Handel erhältlichen Charge stammenden Impfstoffe (Firmen Wellcome und Rhône-Merieux) eine Potenz von 8 IU aufwiesen. Unter Feldbedingungen dürften die Verhältnisse nicht immer so ideal sein. Impfstoffe anderer Chargen oder Hersteller dürften eine geringere Potenz aufweisen (die WHO empfiehlt den Behörden, nur Impfstoffe zuzulassen, die eine Potenz von mindestens 1 IU aufweisen). Zusätzlich ist anzunehmen, dass durch ungeeignete Lagerung, grosse Temperaturschwankungen und Überalterung Einbussen bezüglich Wirksamkeit auftreten können. Unter solchen Bedingungen ist es denkbar, dass die Impfung FeLV-infizierter Tiere nicht den erwünschten Erfolg bringen könnte. Wir unterzogen unsere Katzen 4 Wochen nach Tollwutimpfung der Testinfektion; also zu einem Zeitpunkt, zu welchem der Impfschutz maximal ausgebildet war. Bereits nach 5 Monaten sanken die Titer der FeLV-infizierten, klinisch gesunden Tiere wieder ab. Nach WHO müsste eine einmalige Impfung mindestens für ein Jahr Schutz bieten. Ob die FeLV-infizierten Tiere auch 12 Monate nach Impfung gegenüber einer Testinfektion geschützt gewesen wären ist unklar. Es erscheint daher wichtig, dass diese letzte Frage experimentell abgeklärt wird. Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass bei der Tollwutimpfung der Katze verschiedene Vorbedingungen erfüllt sein müssen: Es sollten nur korrekt aufbewahrte und nicht zu lange gelagerte Impfstoffe mit hoher Potenz verwendet werden; die Tiere müssen vor der Impfung gründlich klinisch untersucht werden. Eine generelle Überprüfung des FeLV-Status vor Tollwutimpfung drängt sich nicht auf. Bei Katzen aus FeLV-Risikogruppen (z.B. Katzen in Gruppenhaltung mit freiem Auslauf aus Gebieten mit hohem FeLV-Durchseuchungsgrad) sollte ein FeLV-Test jedoch in Betracht gezogen werden.

## 6 Zusammenfassung

In den vorliegenden Experimenten sollte abgeklärt werden ob, FeLV-infizierte Katzen durch Impfung gegen Tollwut geschützt werden können und ob bei den unter Feldbedingungen beobachteten Tollwutinfektionen vakzinierter Katzen eine Infektion mit dem felines Leukämievirus den Impfschutz verschlechtert haben könnte.

Dazu wurden 20 SPF-Katzen im Alter von 12 Wo. mit dem FeLV Subtyp A, Stamm Glasgow experimentell infiziert. Nach Entstehung der Virämie (38 Tage nach FeLV-Inokulation) wurden je 10 Tiere mit 2 im Handel erhältlichen Impfstoffen einmal geimpft. Fünfunddreissig Tage nach der Impfung wurden die Katzen mit dem Tollwutvirus GS/7 (einem Wildstamm aus Nordost-Frankreich) infiziert. Zwischen Impfung und Experimentende (145 Tage) wurden 10 Blutproben entnommen und mittels "rapid fluorescent focus inhibition test" die Tollwutvirus-neutralisierenden Antikörper bestimmt.

Während 4 von 5 ungeimpften, FeLV-freien Kontrolltieren innerhalb von 13-20 Tagen an Tollwut erkrankten, blieben alle 30 geimpften Katzen gesund. Die 17 persistierend FeLV-virämischen geimpften Tiere wiesen über die gesamte Versuchsdauer signifikant niedrigere Tollwut-Antikörpertiter auf, als die 10 FeLV-freien, tollwutgeimpften Katzen. Ferner reagierten die FeLV-freien Tiere auf die Testinfektion mit dem Tollwutvirus mit einem signifikanten Anstieg der Antikörpertiter; bei den FeLV-virämischen Katzen war dieser Boostereffekt nur vereinzelt zu beobachten.

Aus diesem Experiment kann geschlossen werden, dass sich gesunde FeLV-freie Katzen und FeLV-virämische Katzen mit Erfolg gegen Tollwut impfen lassen. Bei FeLV-virämischen Tieren scheint der Impfschutz allerdings früher nachzulassen als bei FeLV-freien Katzen. Im Zusammenhang mit der Tollwutimpfung kommt daher der sorgfältigen klinischen Untersuchung auf Anzeichen einer vorbestehenden FeLV-Infektion besondere Bedeutung zu. Eine generelle Überprüfung des FeLV-Status einzeln gehaltener Katzen vor der Tollwutimpfung drängt sich nicht auf; bei Katzen aus FeLV-Risikogruppen ist ein FeLV-Test jedoch angezeigt.

## 7 Literaturverzeichnis: FeLV

- Anderson L.J, Jarrett W.F.H, Jarrett O, Laird H.M.  
Feline leukemia virus infection of kittens: mortality associated with atrophy of the Thymus and lymphoid depletion.  
JNCI 47 807-817 1971a.
- Anderson L.J, Jarrett F.V.H.  
Membranous glomerulonephritis associated with Leukemia in cats.  
Res Vet Sci 12 179-180 1971b
- Baltimore D.  
RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumor viruses.  
Nat 226 1209-1211 1970.
- Bendinelli M.1968; zitiert nach Dent 1972.
- Bennet M, Steeves R.A.1970; zitiert nach Dent 1972.
- Benveniste R.E, Sherr C.J, Todaro G.T.  
Evolution of type C viral genes: origine of feline leukemia virus.  
Science 190 886-888 1975.
- Bolognesi D.P, Montelaro R.C, Frank H, Schäfer W.  
Assembly of type C oncoviruses: a model.  
Science 199 183-186 1978.
- Ceglowski W.S, Friedman H. 1966a,b,c; zitiert nach Dent 1972.
- Cianciolo G.J, Oroszlan S, Snyderman R.  
Inhibition of lymphocyte proliferation by a synthetic peptide homologous to retroviral envelope protein.  
Science 230 453-455 1985.
- Cockerell G.L, Hoover E.A, Krakowka S, Olsen R.G, Yohn D.S.  
Lymphocyte mitogen reactivity and enumeration of circulating B-and T-cells during feline leukemia virus infection in the cat.  
J Natl Cancer Inst 57 (5) 1095-1099 1976.
- Copelan E, Rinehart J.J, Lewis M, Mathes L.E, Olsen R, Sagone A.  
The mechanism of retrovirus suppression of T-cell proliferation in vitro.  
J Immunol 131 2017-2020 1983.
- Cotter S.M, Hardy W.D.jr, Essex M.  
The association of feline leukemia virus with lymphosarcoma and other disorders.  
J Am Vet Med Assoc 168 449-454 1975.
- Cotter S.M.  
Feline leukemia virus induced disorders in the cat.  
Vet Clin of North Am 6 367-378 1976.
- Dent P.B.  
Immunodepression by oncogenic viruses.  
Progr Med Virol 14 1-35 1972.
- Dorn C.R, Taylor D.O.N, Schneider R, Hibbard H.H, Klauber M.R.  
Survey of animal neoplasms in Alameda and Contra Costa Counties in California.II.Cancer morbidity in dogs and cats of Alameda County.  
J Natl Cancer Inst 40 307-318 1968. Zitiert nach Hardy 1987.
- Dubey G.P, Staunton D, Axocar J, Stux S, Essex M, Ynis E.J.  
Natural killer activity against retrovirus infected cells: Dichotomy in natural killer sensitivity of infected T-and B-cells.  
Clin Immunol and Immunopath 23 215-223 1982.
- Dunlap J.E, Nichols W.S, Hebebrand L.C, Mathes L.E, Olsen R.G.  
Mobility of lymphocyte surface membrane concanavalin-A-receptors of normal and feline leukemia virus-infected viremic felines.  
Cancer Res 39 956-959 1979.

- Essex M, Klein G, Snyder S.P, Harrold J.B.  
Correlation between humoral antibody and regression of tumours induced by feline sarcoma virus.  
*Nature* 233 195-196 1971.
- Essex M, Sliski A, Cotter S.M, Jakowski R.M, Hardy W.D.Jr.  
Immunosurveillance of naturally occurring feline leukemia.  
*Sci* 190 790-792 1975.
- Essex M, Sliski A, Hardy W.D.Jr, Cotter S.M.  
Immune response to leukemia virus and tumor-associated antigens in cats.  
*Cancer Res* 36 640-645 1976.
- Fischinger P.J, Peebles P.T, Nomura S, Haapala D.K.  
Isolation of RD-114-like oncornavirus from a cat cell line.  
*J Virol* 11 978-985 1973.
- Francis D.P, Essex M, Gayzagian D.  
Feline leukemia virus survival under home and laboratory conditions.  
*J Clin Microbiology* 9 (1) 154-156 1979a.
- Francis D.P, Cotter S.M, Hardy W.D.Jr, Essex M.  
Comparison of virus-positive and virus-negative cases of feline leukemia and lymphoma.  
*Cancer Res* 39 3866-3870 1979b
- Gardner M.B, Rongey R.W, Arnstein P, Estes J.D, Sarma P, Huebner R.J, Rickard C.G.  
Experimental transmission of feline fibrosarcoma to cats and dogs.  
*Nature* 226 807-809 1970.
- Gardner M.B, Rongey R.W, Johnson E.Y, De Journett R, Huebner R.J.  
C-type tumor virus particles in salivary tissues of domestic cats.  
*J Natl Cancer Inst* 47 561-568 1971.
- Goitsuka R, Hirota Y, Hasegawa A, Tomoda I.  
The decline in the production of interleukin 2 in cats spontaneously infected with feline leukemia virus.  
*Jpn J Vet Sci* 49 (1) 7-14 1987.
- Hardy W.D.Jr.  
Detection of the FeLV and other mammalian oncornaviruses by immunofluorescence.  
Unifying concepts of leukemia, *Bibl Haemat* 39, Verf: R.M.Dutcher und L.Chieco-Bianchi 778-799.  
Karger Basel 1973.
- Hardy W D.Jr. 1980.  
The virology, immunology and epidemiology of the feline leukemia virus.  
In Hardy et al., 1980 33-78.
- Hardy W.D.Jr.  
Hematopoietic tumors in cats.  
*J Am Anim Hosp Assoc* 17 921-940 1981.
- Hardy W.D.Jr.  
Immunopathology induced by the feline leukemia virus.  
*Springer Sem Immunopathol* 5 75-106 1982.
- Hardy W.D.Jr.  
Oncogenic Viruses of cats: the feline leukemia and sarcoma viruses.  
Viral diseases, in: Holzworth, Diseases of the cat, medicine & surgery Vol 1 Saunders 247-256 1987.
- Hardy W.D.Jr, Geering G, Old L.J, De Harven E, Brodey R.S, Mc Donough S.  
Feline leukemia virus: occurrence of viral antigen in the tissues of cats with lymphosarcoma and other diseases.  
*Sci* 166 1019-1021 1969.
- Hardy W.D.Jr, Old L.J, Hess P.W, Essex M, Cotter S.M.  
Horizontal transmission of feline leukemia virus.  
*Nat* 244 266-269 1973.
- Hardy et al., 1976. Zitiert nach Lutz 1983.

Hardy W.D.Jr, Essex M, Mc Clelland A.J. (eds).

Feline leukemia virus.

Development in cancer research 4 / New York, Elsevier North-Holland 1980.

Hardy W.D.Jr, Essex M.

Feline leukemia virus-induced feline acquired immune deficiency syndrome.

Progr Allergy 37 353-376 1986.

Harrel R.A, Cianciolo G.J, Copeland T.D, Oroszlan S, Snyderman R.

Suppression of the respiratory burst of human monocytes by a synthetic peptid homologous to envelope proteins of human and animal retroviruses.

J of Immunol 136 (10) 3517-3520 1986.

Hebebrand L.C, Olsen R.G, Mathes L.E, Nichols W.S.

Inhibition of human lymphocyte mitogen and antigen response by a 15000 Daltons protein from feline leukemia virus.

Cancer Res 39 443-447 1979.

Hoover E.A, Perryman L.E, Kociba G.J.

Early lesions in cats inoculated with feline leukemia virus.

Cancer Res 33 145-152 1973.

Hoover E.A, Olsen R.G, Hardy W.D, Schaller J.P, Mathes L.E.

Feline leukemia virus infection: Age-related variation in response of cats to experimental infection.

J Natl Cancer Inst 57 365-369 1976.

Jakowski R.M, Essex M, Hardy W.D.Jr, Stephenson J.R, Cotter S.M.

Membranous Glomerulonephritis in a household cluster of cats persistently viremic with feline leukemia virus.

In Hardy et al., 1980.

Jameson P, Essex M.

Inhibition of feline leukemia virus replication by human leucocyte interferon.

Antiviral Res 3 115120 1983.

Jarrett W.F.H, Martin W.B, Crichton G.W, Dalton R.G, Steward M.F.

Leukemia in the cat.

Nature 202 566-567 1964a.

Jarrett W.F.O, Crawford E.M, Martin W.B, Davie F.

A virus-like particle associated with leukemia (lymphosarcoma).

Nature 202 567-568 1964b.

Kawakami T.G, Theilen G.H, Dungworth D.L, Munn R.J, Beall S.G.

"C" type viral particles in Plasma of cats with feline leukemia.

Sci 158 1049-1050 1967.

Kiehl A.R, Fettman M.J, Quackenbush S.L, Hoover E.A.

Effects of feline leukemia virus infection on neutrophil chemotaxis in vitro.

Am J Vet Res 48 76-80 1987.

Kobilinsky L, Hardy W.D.Jr, Day N.K.

Hypocomplementemia associated with naturally occurring lymphosarcoma in pet cats.

J Immun 122 2139-2142 1979.

Lafrado L.J, Olsen R.G.

Demonstration of depressed polymorphonuclear leucocyte function in nonviremic FeLV-infected cats.

Cancer Inv 4 297-300 1986.

Langweiler M, Cockerell G.L, De Noronha F.

Role of suppressor cells in feline leukemia virus-associated immunosuppression.

Cancer Res 43 1957-1960 1983.

Lewis M.G, Duska G.O, Stiff M.I, Lafrado L.J, Olsen R.G.

Polymorphonuclear leucocyte dysfunction associated with feline leukemia virus infection.

J Gen Virol 67 2113-2118 1986.

- Livingston D.M., Todaro G.J.  
Endogenous type C virus from a cat cell clone with properties distinct from previously described feline type C virus.  
*Virology* 53 142-151 1973.
- Lutz H.  
Die Infektion mit feline Leukämievirus: Immunologie und Serodiagnostik als Grundlage der Infektionsbekämpfung. 1. und 2. Teil. *Schweiz Arch Tierheilk* 126 1-41 1983.
- Lutz H, Pedersen N.C, Higgins J, Troy F.A, Theilen G.H.  
Long term immune response to feline leukemia virus components in cats after natural infection.  
In: Virus in natural occurring cancers, Cold Spring Harbor conferences on cell proliferation 7 653-664 1980.
- Lutz H, Bruggman S, Corboz L, Limacher W, Weber H, Wissler K, Theilen G.H.  
Combination of polyacrylamide gel electrophoresis with enzyme-linked immunosorbent assay: A simple Method for determination of Antibody specificity and detection of antigens in complex mixtures.  
*Vet Immunol Immunopathol* 2 425-440 1981.
- Lutz H, Jarret O, Suter P.F.  
A one-step-ELISA for the rapid detection of feline leukemia virus infection using monoclonal antibodies; further investigations.  
Elsevier science publishers B.V, Immunoenzymatic techniques, S. Aurameas et al., Editors 363-367 1983a.
- Lutz H, Pedersen N.C, Durbin R, Theilen G.H.  
Monoclonal antibodies to three epitopic regions of feline leukemia virus p27 and their use in enzyme-linked immunosorbent assay.  
*J Immunol Meth* 56 209 220 1983b.
- Lutz H, Pedersen N.C, Higgins J, Hübscher U, Troy F.A, Theilen G.H.  
Humoral immune reactivity to feline leukemia virus and associated antigen in cats naturally infected with feline leukemia virus.  
*Cancer Res* 40 3642-3651 1983c.
- Lutz H, Pedersen N.C, Theilen G.H.  
Course of feline leukemia virus infection and its detection by enzyme-linked immunosorbent assay and monoclonal antibodies.  
*Am J Vet Res* 44 (11) 2054-2059 1983d.
- Lutz H, Pedersen N.C. 1983e; Unveröffentlichte Beobachtungen.
- Lutz H, Egberink H, Arnold P, Winkler G, Wolfensberger C, Jarret O, Parodi A, Pedersen N, Horzineck M.  
Felines T-Lymphotropes Lentivirus (FTLV): Vorkommen in einigen Ländern Europas.  
*Kleintierpraxis* 33 455-459 1988.
- Mc Clelland A.J, Hardy W.D.Jr, Zuckermann E.E.  
Prognosis of Healthy feline leukemia virus infected cats.  
In: Hardy W.D.Jr, Essex M, Mc Clelland A.J. Feline leukemia virus.  
Developement in cancer research 4 / Elsevier North-Holland 1980.
- Mathes L.E, Olsen R.G, Hebebrand L.C, Hoover E.A, Schaller J.  
Abrogation of lymphocyte blastogenesis by a feline leukemia virus protein.  
*Nature* 274 687-689 1978.
- Mitani M, Cianciolo G.J, Snyderman R, Yasuda M, Good R.A, Day N.K.  
Suppressive effect on polyclonal B-cell activation of a synthetic peptide homologous to a transmembran component of oncogenic retroviruses.  
*Proc Natl Acad Sci USA* 84 237-240 1987.
- Mullins J.I, Chen C.S, Hoover E.A.  
Disease specific and tissue specific production of unintegrated feline leukemia virus variant DNA in feline AIDS.  
*Nature* 319 333-336 1986.
- Neil J, Onions D.E, Jarret O.  
Polypeptides of feline leukemia virus: Identification of p15(E) and p12(E).  
*J Gen Virol* 50 455-460 1980.

- Odaka T. et al; zitiert nach Dent 1972.
- Okabe H, Twiddy E, Gilden R.V, Hatanaka M, Hoover E.A, Olsen R.G.  
FeLV related sequences in DNA from a FeLV-free cat colony.  
*Virology* **69** 798-801 1976.
- Old L.J. et al., 1960; zitiert nach Dent 1972.
- Orosz C.G, Zinn N.E, Olsen R.G, Mathes L.E.  
Retrovirus mediated immunosuppression: I. FeLV-UV and specific FeLV proteins alter T- lymphocyte behavior by inducing hyporesponsiveness to lymphokines.  
*J Immunol* **134** (5) 3396-3403 1985.
- Pedersen N.C. 1984, nicht Publiziert, zitiert nach Pedersen N.C. 1987a.
- Pedersen N.C.  
Feline leukemia virus.  
In: *Virus Infections of vertebrates/ 1 Virus infections of carnivores/ Cat/ Kap 30* 299-320  
M.Horzineck (Series editor)/ Appel M.J.(Ed)/Elsevier 1987a.
- Pedersen N.C.  
Feline syncytium-forming virus infection.  
In: Holzworth, Diseases of the cat, medicine & surgery.  
Vol 1 Saunders 268 u. ff. 1987 b.
- Pedersen N.C, Theilen G.H, Keane M.H, Fairbanks L, Mason T, Orser B, Chen C, Allison C.  
Studies on naturally transmitted feline leukemia virus infection.  
*Am J Vet Res* **38** 1523-1531 1977.
- Pedersen N.C, Pool R.R, O'Brien T.  
Feline chronic progressive polyarthritis.  
*Am J Vet Res* **41**(4) 522-535 1980.
- Pedersen N.C, Meric S.M, Ho E, Johnson L, Plucker S, Theilen G.H.  
The clinical significance of latent feline leukemia virus infection in cats.  
*Feline Pract* **14**(2) 32-48 1984.
- Pedersen N.C, Ho E.W, Brown M.L, Yamamoto I.K.  
Isolation of a T-lymphotrophic virus from domestic cats with an immunodeficiency-like syndrome.  
*Science* **235** 790-793 1987.
- Perryman L.E, Hoover E.A, Yohn D.S.  
Immunologic reactivity of the cat: immunosuppression in feline leukemia.  
*J Natn Cancer Inst* **49** 1357-1365 1972.
- Pinter A, Fleissner E.  
Structural proteins of retroviruses: Characterisation of oligomeric complexes of murine and feline leukemia virus envelope and core components formed upon cross-linking.  
*J Virol* **30** 157-165 1979.
- Pirquet C. von 1908; zitiert nach Dent 1972.
- Pool und Harris 1975. Zitiert nach Pedersen 1987a.
- Post J.E, Warren L.  
Reactivation of latent feline leukemia virus.  
In: Hardy et al., 151-155 1980.
- Rojko J.L, Hoover E.A, Mathes L.E, Olsen R.G, Schaller J.P.  
Pathogenesis of experimental FeLV infection.  
*J Natn Cancer Inst* **63** (3) 759-768 1979.
- Rojko J.L, Hoover E.A, Quackenbusch S.L, Olsen R.G.  
Reactivation of feline leukemia virus infection.  
*Nature* **298** 385-388 1982.
- Russel P.H, Jarret O.  
The occurrence of feline leukemia virus neutralizing antibodies in cats.  
*Int J Cancer* **22** 351-357 1978.



- Sarma P.S, Sharar A, Walters V, Gardner M.  
A survey of cats and humans for prevalence of feline leukemia-sarcoma virus neutralizing serum antibodies.  
*Proc Soc Exp Biol Med* 145 560-564 1974.
- Salaman M.H, Weddenburn N., 1966; zitiert nach Dent 1972.
- Schneider M, Doré J.F., 1969; zitiert nach Dent 1972.
- Scott D.W, Schulz R.D, Post J.E, Bolton G.R, Baldwin C.A.  
Autoimmune hemolytic anemia in the cat.  
*J Am Anim Hosp Assoc* 9 530-539 1973, zitiert nach Pedersen 1987a.
- Scott F.W.  
Virucidal disinfectants.  
*Feline health topics for veterinarians* 1(3) 3 1986.
- Snyder S.P, Theilen G.H.  
Transmissible feline fibrosarcoma.  
*Nature* 221 1074-1075 1969.
- Stephenson J.R, Reynolds R.K, Sushilkumar G.D, Reynolds F.H.  
Biochemical and immunological properties of gag gene-coded structural proteins of endogenous type C RNA tumor viruses of diverse mammalian species.  
*J Biol Chem* 252 7818-7825 1977.
- Teich.S.  
In: Weiss N, Teich R, Varmus H, Coffin J.  
RNA tumor viruses  
2.Aufl. Cold Spring Harbor Laboratory 1982.
- Trainin Z, Wernicke D, Ungar-Waron H, Essex M.  
Suppression of the humoral antibody response in natural retrovirus infections.  
*Science* 20 858-859 1983.
- Vedbrat S.S, Rasheed S, Lutz H, Gonda M.A, Ruscetti S, Gardner M.B, Prenskey W.  
Feline oncornavirus-associated cell membrane antigen: a viral and not a cellular coded transformation-specific antigen of cat lymphomas.  
*Virology* 124 445-461 1983
- Velicer L.F, Graves D.C.  
Properties of feline leukemia virus. II. In vitro labelling of the polypeptides.  
*J Virol* 14 700-703 1974.
- Weddenburn N, Salaman M.H. 1968 ; zitiert nach Dent 1972.
- Weiss R, Teich N, Varmus H, Coffin J.  
RNA tumor viruses  
2.Aufl. Cold Spring Harbor Laboratory 1982.
- Wainberg M, Vydellingum S, Margolis R.  
Viral inhibition of lymphocytes mitogenesis: interference with the synthesis of functionally active T-cell growth factor (TCGF) activity and reversal of inhibition by addition of the same.  
*J Immunol* 130 2372 1983.
- Wernicke D, Trainin Z, Ungar-Waron H, Essex M.  
Humoral immune response of asymptomatic cats naturally infected with feline leukemia virus.  
*J Virol* 60 (2) 669 673 1986.
- Yamamoto 1984, unveröffentlicht, zitiert nach Pedersen 1987a, S. 314.

## 8 Literaturverzeichnis : Tollwut

- Abelseth M.K.  
Propagation of rabies virus in pig kidney cell culture.  
Can Vet J 5 84-87 1964a.
- Abelseth M.K.  
An attenuated rabies vaccine for domestic animals produced in tissue culture.  
Can Vet J 5(11) 279-286 1964b.
- Abelseth M.K.  
Further studies on the use of ERA rabies vaccine in domestic animals.  
Can Vet J 8 221-227 1967.
- Anderson L.J, Nicholson K.G, Tauxe R.V, Winkler W.G.  
Human rabies in the United States, 1960 to 1979: epidemiology, diagnosis, and prevention.  
Ann Int Med 100 728-735 1984.
- Artois M, Aubert M.F.A, Blancou J, Pericard M.  
Rage expérimentale du chat, sensibilité-symptômes-excrétion du virus.  
Revue Méd Vét 135 (5) 281-287 1984.
- Baer G.M.  
The natural history of rabies.  
Ac Press 1975.
- Baer G.M, Wandeler A.I.  
Rabies Virus.  
In: Virus Infections of vertebrates/ 1 Virus infections of carnivores/ Dog/ Kap 15 167-182.  
M.Horzineck (Series editor)/ Appel M.J. (Ed)/Elsevier 1987.
- Bellinger D.A, Chang J, Bunn T.O, Pick J.R, Murphy M, Rahija R.  
Rabies induced in a cat by high-egg-passage Flury strain vaccine.  
JAVMA 183 997-998 1983.
- Blancou J, Aubert M.F.A, Soulerbot J.P.  
Différences dans le pouvoir pathogène de souches de virus rabique adaptées au renard ou au chien.  
Ann Virol (Inst Pasteur) 134E 523-531 1983.
- Blancou J, Aubert M.F.A, Prave M, Haddad N.  
Influence du statut sanitaire des carnivores sur leur capacité à s'immuniser contre la rage.  
Sci Tech Anim Lab 11 (3) 237-242 1986.
- Bögel K, Posch J, Quander J, Kuwert E, Pilchta C.  
Antirabies treatment in man in relation to epidemiological conditions: Nordrhein-Westfalen.  
Zbl Bakt Hyg I Abt Orig A 231 15-30 1975.
- Bosc F.J.  
C R Soc Biol 55 1284-1288 1903, zitiert nach Baer 1975.
- Boulger L.R, Porterfield J.S.  
Isolation of a virus from nigerian fruit bats.  
Trans of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 52(5) 421-424 1958.
- Buckley S.M.  
Singh's Aedes albopictus cell cultures as helper cells for the adaptation of Obodhiang and Kotonkan viruses of the rabies serogroup to some vertebrate cell cultures.  
Appl Microb 24(4) 695-696 1973.
- Bunn T.O.  
Rabies Virus.  
In: Virus Infections of vertebrates/ 1 Virus infections of carnivores/ Cat/ Kap 29 287-295.  
M.Horzineck (Series editor)/ Appel M.J. (Ed)/Elsevier 1987.
- Cox J.H.  
The structural proteins of rabies virus.  
Comp Immun Microbiol Infect Dis 5 21-25 1982.

Dean D.J., Abelseth M.K.

Epreuve des anticorps fluorescents.

In: Kaplan und Koprowski 1974 6 75-82.

Debbie J.G.

Rabies.

Progr Med Virol 18 241 1974.

Debbie J.G., Trimarchi C.V.

Pantropism of rabies virus in free ranging rabid red fox (*vulpes fulva*).

J Wildlife Dis 6 500-506 1970.

Dietzschold B, Cox J.H, Schneider L.G, Wiktor T.J, Koprowski H.

Isolation and purification of a polymeric form of the glycoprotein of rabies virus.

J Gen Virol 40 131-139 1978.

Eriewein D.L.

Postvaccinal rabies in a cat.

Fel Pract 11 16-20 1981.

Esh J.B, Cunningham J G, Wiktor T.J.

Vaccine induced rabies in four cats.

JAVMA 180 1336-1339 1982.

Familusi J.B, Moore D.L.

Isolation of a rabies related virus from the cerebrospinal fluid of a child with "aseptic meningitis".

Afr J Med Sci 3 93-96 1972a.

Familusi J.B, Osunkoja B.O, Moore D.L, Kemp G.E, Fabiyi A.

A fatal human infection with Mokola virus.

Am J Trop Med Hyg 21(6) 959-963 1972b.

Fekadu M., 1969, zitiert nach Fekadu et al., 1981 und nach Bell J.F. In: Baer 1975.

Fekadu M, Baer G.M.

Recovery from clinical rabies of 2 dogs inoculated with a rabies virus strain from Ethiopia.

Am J Vet Res 41 1632-1634 1980.

Fekadu M, Shaddock J.H, Baer G.M.

Intermittent excretion of rabies virus in the saliva of a dog two and six months after it had recovered from experimental rabies.

Am J Trop Med Hyg 30 (5) 1113-1115 1981.

Fekadu M, Shaddock G.H, Baer G.M.

Excretion of rabies virus in the saliva of dogs.

J of Inf Dis 145 (5) 715-719 1982.

Fenje P.

Propagation of rabies virus in cultures of hamster kidney cells.

Can J Microbiol 6(5) 479-484 1960a.

Fenje P.

A rabies vaccine from hamster kidney tissue cultures: preparation and evaluation in animals.

Can J Microbiol 6(5) 605-609 1960b.

Hattwick M.A.W, Weis T.T, Stechschilte C.J, Baer G.M, Gregg M.B.

Recovery from rabies. A case report.

Ann Int Med 76 931-942 1972.

Hattwick M.A.W, Gregg M.B.

The disease in man. In Baer G.M. The natural history of rabies.

Vol II , Kap 18 281-317 Ac Press 1975.

Hummeler K, Koprowski H, Wiktor T.J.

Structure and developments of rabies virus in tissue culture.

J Virol 1 152-170 1967.

Hutyra, Marek, Manninger R, Mocsi J.

Spezielle Pathologie und Therapie der Haustiere

11. Auflage, 1959 637-668 Fischer Verlag, Jena (erste Auflage 1905)

Jäger O, Barth R.

Zur experimentellen Infektion der Katze mit dem Tollwut-Strassenvirus-Stamm NYC

Berl Münch Tierärztl Wschr 92 27-29 1979

Kaplan M.M, Koprowski H.

La rage: techniques de laboratoire.

3ème ed Org Mond de la santé, Genève 1974

Kelser R.A.

Rabies vaccine chloroform-treated.

JAVMA 77 595-603 1930, zitiert nach Baer und Wandeler 1987

Kemp G.G, Causey O.R, Moore D.L, Odelola A, Fabiyi A.

Mokola virus: further studies on Ib An 27377, a new rabies related etiologic agent of zoonosis in Nigeria.

Am J Trop Med Hyg 21(3) 356-359 1972.

Kemp G.E, Lee V.H, Moore D.L, Shope R.E, Causey O.R, Murphy F.K.

Kotonkan, a new Rhabdovirus related to Mokola virus of the rabies serogroup.

Am J Epid 98(1) 43-49 1973.

Kieny M.P, Desmettre P, Soulebot J-P, Lathe R.

Rabies vaccine: Traditional and novel approaches.

Progr Vet Microbiol Immun, Karger, Basel 3 73-111 1987

Kissling R.E, Reese D.R.

J Immunol 91 362 ff 1963, zitiert nach Sokol F, 1975.

Kihm U, Lazarowicz M, Bommeli W, Zutter R.

Potency of two rabies vaccines in cats as determined by antibody assay and virulent virus challenge.

Comp Immun Microbiol Infect Dis 5(1-3) 227-232 1982.

Kissling R.E.

Growth of rabies virus in non nervous tissue culture.

Proc Soc Exp Biol Med 98 223-225 1958, zitiert nach Kieny et al., 1987.

Komarov A, Hornstein K.

Studies on the pathogenicity of an avianized street rabies virus.

Cornell Vet 43 344-361 1953.

Koprowski H.

Chicken-embryo vaccine.

In: Kaplan M.M, Koprowski H.

Laboratory techniques in rabies

3.Ed. 26 235-242 WHO 1973

Koprowski H, Cox H.R.

Studies on chick embryo adapted rabies virus. I. Culture characteristics and pathogenicity

J Immunol 60 533-554 1948.

Koprowski H, Black J.

Studies on chick embryo adapted rabies virus. II. Pathogenicity for dogs and use of egg adapted strains for vaccination purposes.

J Immunol 64 185-196 1950.

Kuwert E, Wiktor T.J, Sokol F, Koprowski H.

J Virol 2 1381 ff 1968, zitiert nach Sokol F, 1975.

Larghi O.P, Diaz M.O.

Cross protection of mice against different rabies virus isolates.

Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A 259 268-274 1985.

Lawson K.F, Walker V.C.R, Crawley J.F.

ERA strain of rabies vaccine. Duration of immunity in cattle, dogs and cats

Vet Med Small Anim Clin 62 1073-1074 1967.

- Lawson K.F., Crawley J.F.  
The ERA strain of rabies vaccine.  
Can J Comp Med 36 339-344 1972.
- Leach C.N., Johnson H.N.  
Human rabies, with special reference to virus distribution and titer.  
Am J Trop Med Hyg 20 335-340 1940.
- Lorenz R.J., Bögel K.  
Methods of calculation. A. The Spearman-Kärber Method.  
In: Kaplan M.M., Koprowski H. Laboratory techniques in rabies  
3.Ed. (Appendix) 321-335 WHO 1973
- Mayr A., Eissner G., Mayr-Bibrack B.  
Handbuch der Schutzimpfungen in der Veterinärmedizin.  
P. Parey Verlag, 1984.
- Moore G.J., Raymond G.H.  
Prolonged incubation period of rabies in a naturally infected insectivorous bat, *Episticus fuscus* (Beauvois).  
J Wildl Dis 6 167-168 1970, zitiert nach Debbie 1974.
- Murphy F.A., Bauer S.P., Harrison H.K., Winn W.C.  
Comparative pathogenesis of rabies-like viruses. Viral infection and transit from inoculation site to the central nervous system.  
Lab Inv 28 (3) 361-375 1973.
- Negri A.  
Z Hyg Infektionskr 43 507-528 1903, zitiert nach Baer 1975.
- Neunzig H.P., Goossens-Merkel H., Arlt A., Zschocke S., Kunze K., Marcus I., Laufs R., Colmant H.J., Raczy P.  
Klinische Manifestation der Tollwut beim Menschen.  
Nervenarzt 58 549-556 1987.
- Neurath A.R., Vernon S.K., Dobkin M.B., Rubin B.A.  
Characterisation of subviral components resulting from treatment of rabies virus with tri(n-butyl) phosphate.  
J Gen Virol 14 33-48 1972.
- Pasteur L.  
Methode pour prévenir la rage après morsure.  
Cr Hebd Séanc Acad Sci Paris 101 765-772 1885, Ref. aus Klieny et al., 1987.
- Perrin P., Thibodeau L., Dauguet C., Fritsch A., Sureau P.  
Amplification des propriétés immunogènes de la glycoprotéine rabique par ancrage sur des liposomes préformés.  
Ann Virol (Inst Past) 135 E 183-199 1984.
- Perry B.D.  
Rabies.  
Veterinary Clinics of North America: Small animal practice 17 (1) 73-89 1987.
- Pinteric L., Fønje.  
Electron microscopic observations of the rabies virus.  
Int Symp on Rabies, Talloires 1965; Symp Series Immunobiol Standard 1 9-25 (Karger) 1966.
- Remlinger P.  
C R Acad Sci 166 750 ff 1918, zitiert nach Sokol F., 1975.
- Rolle M., Mayr A.  
Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre für Tierärzte, Biologen und Agrarwissenschaftler.  
F. Enke Verlag, Stuttgart 1978.
- Schale F.W.  
Studie zur Epidemiologie der Tollwut.  
Vet Med Inaug Diss Giessen 1975, zitiert nach Steck et al., 1980.

- Scheiermann N, Kuwert E.  
Tollwutvirus im Speichel infizierter Tiere vor Ausbruch der klinischen Symptome.  
Dtsch Med Wochenschr 109 (46) 1781-1782 1984.
- Schmidt J.R, Williams M.C, Lule M, Mivule A, Mujomba E.  
East Afr Virus Res Inst Rep 15 24, zitiert nach Baer 1975 S.145.
- Schneider L.G, Schoop P.  
Pathogenesis of rabies and rabies-like viruses.  
Ann Inst Past 123 469-476 1972.
- Schweizerische Tollwutzentrale, Bern 1980.  
Determination of rabies antibodies in serum. Rapid fluorescence focus inhibition.  
unveröffentlicht.
- Sharpee R.L, Beckenhauer W.A.  
Vaccine induced rabies in a cat.  
JAVMA 184 (4) 380-382 1984.
- Shope R.E, Murphy F.A, Harrison A.K, Causey O.R, Kemp G.E, Simpson D.H, Moore D.L.  
Two african viruses serologically and morphologically related to rabies virus.  
J of Virol 6 690-692 1970.
- Smith J.S, Yager P.A, Baer G.M.  
A rapid reproducible test for determining rabies neutralizing antibody.  
Bull Wild Hlth Org 48 535-541 1973.
- Smith J.S, Reid-Sanden F.L, Roumillat L.F, Trimarchi C, Clark K, Baer G.M, Winkler W.G.  
Demonstration of antigenic variation among rabies virus isolates by using monoclonal antibodies to nucleocapsid proteins.  
J Clin Microbiol 24 (4) 573-580 1986.
- Sodja I.  
Antigenic variation in rabies virus strains.  
Acta Virol (Praha) 30 (4) 309-319 1986.
- Sokol F, Schlumberger H.D, Wiktor T.J, Koprowski H, Hummeler K.  
Biochemical and biophysical studies on the nucleocapsid and on the RNA of the rabies virus.  
Virology 38 651-665 1969.
- Sokol F.  
Chemical comparison and structure of rabies virus.  
In Baer G.M. The natural history of rabies.  
Vol 1 Academic Press 79-102 1975
- Soulebot J.P, Brun A, Chappuis G, Guillemin F.  
Rabies virus pathogenicity and challenge.  
Comp Immun Microb Inf Dis 5 1-3 71-75 1982.
- Soulebot J.P, Brun A, Chappuis G, Guillemin F, Petermann H.G, Precausta P, Terre J.  
Experimental rabies in cats: Immune response and persistence of immunity.  
Cornell Vet 71 311-325 1981.
- Steck F.U, Häfliger U, Stocker C, Wandeler A.  
Oral immunisation of foxes against rabies.  
Experientia 34 1662 1978.
- Steck F, Wandeler A, Nydegger B, Manigley C, Weiss M.  
Die Tollwut in der Schweiz 1967-1978.  
Schweiz Arch Tierheilk 122 605-636 1980.
- Steck F, Wandeler A, Bichsel P, Capt S, Schneider L.  
Oral immunisation against rabies. A field study.  
Zbl Vet Med B 29 372-396 1982.
- Süveges P, Ványi.  
(Auftreten der Tollwut in Ungarn).  
Mag Állatorv Lapja 16 347 1961, zitiert nach Wachendörfer 1968.

Swiss Rabies Center.

Quarterly report of the swiss rabies center.

Bern 1967,1980.

Tignor G.H, Shope R.E, Bhatt P.M, Percy D.H.

Experimental infection of dogs and monkeys with two rabies serogroup viruses, Lagos bat and Mokola (lb An 27377): Clinical serologic, virologic and fluorescent antibody studies.

J Infect Dis 128 471-478 1973.

Umeno S, Doy Y.

A study in the antirabic inoculation of dogs.

Kitasato Arch Exp Med 4 89-108 1921, zitiert nach Baer und Wandeler, 1987.

Vaughn J.B, Gerhardt P, Paterson J.C.S.

Excretion of street rabies virus in saliva of cats.

J Am Med Ass 184 705-708 1963.

Vaughn J.B.

Cat rabies. In : Natural history of rabies.

Baer G.M., Ed Academic Press, New York, San Francisco, London. 1 1975.

Veeraraghavan N, Gajanan A, Rangsam R, Oonunni P.T, Sarawathi K.C, Devaraj R, Hallan K.M.

Studies on the salivary excretion of rabies virus from the dog of Surandai.

Coonoor scientific report, Pasteur Institute of Southern India, Coonoor, Tamilnadu, India. S.66 1969.

zitiert nach Fekadu et al., 1981 und nach Bell, in: Baer 1975.

Wachendörfer G.

Zur Klinik der Tollwut bei den Haustieren.

Schweiz Arch Tierheilk 110 218-233 1968.

Wandeler A. 1989, persönliche Mitteilung.

Whetstone C.A, Bunn T.O, Emmons R.W, Wiktor T.J.

Use of monoclonal antibodies to confirm vaccine induced rabies in ten Dogs two cats and one fox.

JAVMA 185 285-288 1984.

WHO expert committee on rabies.

6.Report.

WHO Tech Rep Ser 523 1973.

WHO expert committee on rabies.

7.Report.

WHO Tech Rep Ser 709 1984.

Wiktor T.J.

Tissue culture methods in: Kaplan M.M, Koprowski H.

Laboratory techniques in rabies.

3.ed. 101-123 WHO, Geneva 1973.

Wiktor T.J, Koprowski H.

Antigenic variants of rabies virus.

Rab Inf Exch 2 23-25 1980.

Wiktor T.J, Mac Farlan R.I, Reagan K.J, Dietzschold B, Curtis P.J, Wunner W.H, Kiény M.P, Lathe R,

Lecocq J.P, Mackett M, Moss B, Koprowski H.

Protection from rabies by a vaccinia virus recombinant containing the rabies virus glycoprotein gene.

Proc Natl Acad Sci USA 81 7194-7198 1984.

## Danksagungen

Die Durchführung dieser Arbeit wurde ermöglicht durch Unterstützung durch verschiedene Laboratorien und deren Mitarbeiter, nämlich der schweizerischen Tollwutzentrale (Dr. A. Wandeler und Mitarbeiter), dem eidgenössischen Vakzineinstitut (Prof. Dr. U. Kihm und Mitarbeiter) und dem Labor der veterinärmedizinischen Klinik der Universität Zürich (Prof. Dr. P.F. Suter und Mitarbeiter).

An erster Stelle möchte ich Prof. Dr. H. Lutz für die Überlassung des Dissertationsthema, für das Korreferat und für die wissenschaftliche, technische und organisatorische Leitung, Beratung und Unterstützung danken. Ferner sei Herrn Dr. A. Wandeler für seine tatkräftige Anleitung und Unterstützung bei der Bestimmung der Tollwutantikörpertiter herzlich gedankt. Mein besonderer Dank geht zudem an Herrn Dr. L. Bruckner für die grosszügige Beratung und Unterstützung in Zusammenhang mit der Tollwutinfektion, an Prof. Dr. O. Jarrett für die Zurverfügungstellung des FeLV und an Dr. J. Blancou für die Überlassung des Tollwutvirus.

Für wertvolle Anregungen und Ideen bin ich auch folgenden Herren zu Dank verpflichtet: PD Dr. G. Winkler, Prof. U. Kihm, Prof. R. Wyler.

Für die Mitarbeit an diesem Versuch danke ich den Mitarbeitern der drei obengenannten Institute, insbesondere: Fr. R. Kipfer, Fr. H. Gerber, Hr. A. Joss, Fr. D. Schmid, Fr. J. Skaggs, Hr. H. Küttel, Hr. F. Perlini, Hr. R. Zutter.

Für die Übernahme des Referates danke ich Herrn Prof. Dr. P.F. Suter.

Für die Übernahme des Korreferates und für wertvolle Anregungen in Zusammenhang mit der Planung danke ich Prof. Dr. M. Ackermann.

Für die statistische Beratung danke ich Herrn. PD Dr. Eggenberger von der Fachstelle für Biometrie der Veterinärmedizinischen Fakultät.

Für die prompte Mithilfe in der Gesundheitsüberwachung der Katzen möchte ich Herrn Dr. M. Hoffman (Vet-Virologie und Herrn C. Mettler (Vet-Bakteriologie) danken.

Hr. Prof. Dr. H. U. Bertschinger vom Veterinär-Bakteriologischen Institut und Hr. Prof. Dr. C. Bauer vom Institut für Physiologie der Universität Zürich haben uns Tierräume zur Verfügung gestellt; dafür sei bestens gedankt.

Ein ganz besonderes Dank geht an die Firma Ciba-Geigy AG für die Donation von 43 SPF-Katzen, und an die Firma EFFEMS AG für die unentgeltliche Lieferung von Katzenfutter.

Ich danke auch den Firmen Rhône-Merieux und Wellcome für die finanzielle Unterstützung und für die Zurverfügungstellung der Impfstoffe.

Am Schluss danke ich ganz besonderes meiner Freundin F. Zimmermann für die Übernahme der Korrekturarbeit, für die Mithilfe im Experiment und für die moralische Unterstützung.

Dieses Projekt wurde teilweise unterstützt durch den Schweizerischen Nationalfonds, Projekt Nr. 3. 633. 87.